

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS  
ALIMENTOS**

Francilene Gracieli Kunradi Vieira

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* E *IN VIVO* DE  
DIFERENTES CULTIVARES DE MAÇÃ (*Malus domestica* Borkh)  
DO ESTADO DE SANTA CATARINA**

Florianópolis  
2010



Francilene Gracieli Kunradi Vieira

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* E *IN VIVO* DE  
DIFERENTES CULTIVARES DE MAÇÃ (*Malus domestica* Borkh)  
DO ESTADO DE SANTA CATARINA**

Tese submetida ao Programa de Pós-  
Graduação em Ciência dos Alimentos  
da Universidade Federal de Santa  
Catarina para a obtenção do Grau de  
Doutor em Ciência dos Alimentos.  
Orientadora: Profa. Dra. Roseane Fett  
Co-orientadora: Profa. Dra. Patricia  
Faria Di Pietro

Florianópolis  
2010

Catologação na fonte pela Biblioteca Universitária da  
Universidade Federal de Santa Catarina

V658a Vieira, Francilene Gracieli Kunradi

Atividade antioxidante in vitro e in vivo de diferentes  
cultivares de maçã (*Malus domestica* Borkh) do estado de Santa  
Catarina [tese] / Francilene Gracieli Kunradi Vieira; orientadora,  
Roseane Fett. - Florianópolis, SC, 2010.

170 p.: il., grafs., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina,  
Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em  
Ciência dos Alimentos.

Inclui referências

1. Ciência dos alimentos. 2. Tecnologia de alimentos. 3. Maçã.  
4. Fenólicos totais. 5. Flavanóis totais. 6. Antocianinas. 7.  
Atividade antioxidante. 8. Estudo em humanos. I. Fett, Roseane. II.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-  
Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

CDU 663

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* E *IN VIVO* DE  
DIFERENTES CULTIVARES DE MAÇÃ (*Malus domestica* Borkh)  
DO ESTADO DE SANTA CATARINA**

**Por**

**Francilene Gracieli Kunradi Vieira**

Tese aprovada como requisito final para a obtenção do título de Doutor em Ciência dos Alimentos na Universidade Federal de Santa Catarina, pela banca examinadora:

**Presidente:** \_\_\_\_\_  
Prof.ª. Dra. Roseane Fett (UFSC) (Orientadora)

**Membro:** \_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Jorge Mancini Filho (USP)

**Membro:** \_\_\_\_\_  
Prof.ª. Dra. Sandra Soares Melo (UNIVALI)

**Membro:** \_\_\_\_\_  
Prof.ª. Dra. Giovanna Medeiros Rataichesk Fiates (UFSC)

**Membro:** \_\_\_\_\_  
Prof.ª. Dra. Edna Regina Amante (UFSC)

**Suplente:** \_\_\_\_\_  
Prof.ª. Dra. Patrícia Faria Di Pietro (Co-Orientadora) (UFSC)

**Coordenadora:** \_\_\_\_\_  
Renata Dias de Mello Castanho Amboni (UFSC)

**Florianópolis, abril de 2010.**



*Ao meu esposo, Fabiano, pelo amor, carinho, compreensão, paciência, por acreditar em mim, por ter me proporcionado o apoio e a confiança necessários para que eu seguisse adiante.*





## AGRADECIMENTOS

A todos que contribuíram para realização dessa etapa de minha vida, meu sincero reconhecimento e agradecimento, em especial:

À professora Roseane Fett, minha orientadora, pela confiança, orientação, apoio e carinho e, principalmente, por ter aceitado este desafio que me deu oportunidade de conhecê-la e admirá-la;

À professora Patrícia Faria Di Pietro, minha orientadora na graduação, com a Iniciação Científica e no mestrado, minha madrinha de casamento, e não podia deixar de ser minha co-orientadora no doutorado, a quem devo muito por todas as oportunidades que tem me proporcionado, como também pelo apoio; muito obrigada;

Ao professor Edson Luiz da Silva por ter aceitado participar prontamente do delineamento do estudo *in vivo*, pela orientação e por todos os ensinamentos durante as análises bioquímicas;

A todos os colegas do Laboratório de Química de Alimentos, em especial às amigas Graciele Borges e Cristiane Copetti, e ao técnico Luciano Gonzaga, por toda a ajuda concedida no decorrer deste trabalho;

Às amigas, Brunna Boaventura, Claudia Ambrosi e Gabriele Rockenbach, pela amizade e compreensão pela minha ausência;

Ao professor Jorge Mancini Filho, por sua grande contribuição como relator e membro da banca.

Às professoras Edna Regina Amante, Giovanna Medeiros Rataichesk Fiates e Sandra Soares Melo, por suas contribuições e por aceitarem participar da banca de defesa deste trabalho;

À professora Renata Dias de Mello Castanho Amboni, pela sua colaboração durante a realização deste trabalho;

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, pela estrutura física e profissional durante minha formação.

Aos professores do Departamento de Nutrição, por todos os ensinamentos durante a minha formação acadêmica;

Ao secretário da Pós-Graduação, Sérgio de Souza, que me ajudou em muitos momentos da maneira mais paciente e alegre possível;

A todas as voluntárias que prontamente participaram do estudo *in vivo*.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI/SC), em especial aos agrônomos Eduardo da Costa Nunes, da Estação Experimental de São Joaquim, e Frederico Denardi, da Estação Experimental de Caçador, pelo fornecimento das diferentes cultivares de maçãs;

Ao meu esposo, Fabiano, pelo amor dedicado, pela sua paciência, por acreditar no meu potencial, pelo ombro amigo e pela compreensão nos momentos difíceis;

À minha família, pelo carinho, dedicação, estímulo e paciência pela minha ausência;

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para este trabalho, meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

A maçã (*Malus domestica* Borkh) muito consumida em diversas regiões do mundo é considerada uma fruta rica em compostos fenólicos, os quais variam conforme a cultivar e a parte da fruta analisada. Este estudo objetivou analisar as características físico-químicas de diferentes cultivares de maçãs colhidas no sul do Brasil, nos anos de 2008 e 2009; comparar o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante na polpa, fruta inteira e casca destas cultivares; e investigar o efeito do consumo agudo de duas cultivares de maçã sobre a atividade antioxidante e a oxidação lipídica em humanos. Entre as duas safras, foram estudadas, no total, 22 cultivares de maçãs colhidas nas Estações Experimentais da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI/SC). O conteúdo de matéria seca, sólidos solúveis totais, pH, açúcares totais, acidez titulável, fenólicos totais, flavanóis totais, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante foram determinados nas amostras. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as cultivares, em todos os parâmetros de composição química analisados. As concentrações de fenólicos totais, flavanóis totais, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP também diferiram significativamente entre as cultivares e foram maiores na casca, seguidas da fruta inteira e polpa. Independente do ano de colheita, a cultivar Catarina apresentou significativamente as maiores concentrações de fenólicos totais, flavanóis totais e maior atividade antioxidante, enquanto que a cultivar Golden Delicious, em 2008, apresentou as menores concentrações, e em 2009, esteve entre as cultivares com menores conteúdos destes parâmetros. Foi observada uma relação positiva entre o conteúdo de fenólicos totais e a atividade antioxidante dos extratos; entre flavanóis totais e atividade antioxidante; e entre fenólicos totais e flavanóis totais na polpa, fruta inteira e na casca. Nove mulheres saudáveis, não fumantes, participaram de um estudo de intervenção controlado para verificar o efeito do consumo agudo de 300 mL de suco de maçã da cultivar Golden Delicious, suco de maçã da cultivar Catarina ou Água, sobre o estado antioxidante e a oxidação lipídica sérica. Uma hora após o consumo de ambos os sucos, houve significativo aumento na capacidade antioxidante, no ácido ascórbico e ácido úrico séricos, e diminuição da oxidação lipídica comparado com o grupo controle que consumiu apenas água. Nenhuma diferença significativa foi observada entre o efeito do consumo agudo do suco da Golden Delicious e Catarina; contudo, as modificações

observadas após o consumo dos sucos foram estatisticamente diferentes das observadas após o consumo de água. As concentrações séricas de fenólicos totais não foram afetadas em nenhum dos tratamentos. Nenhum efeito significativo sobre a inibição da oxidação lipídica *ex vivo* foi observado. Após a intervenção com suco de maçã Golden Delicious e Catarina, o aumento da atividade antioxidante e a redução da oxidação lipídica sérica foram relacionados ao aumento da concentração sérica de ácido úrico. Nenhuma relação foi observada entre as alterações da concentração de ácido ascórbico e atividade antioxidante e oxidação lipídica sérica. Os resultados deste estudo indicam que o genótipo de maçãs substancialmente influencia a composição química da fruta, especialmente quanto ao conteúdo de compostos fenólicos, entretanto o efeito do consumo agudo de maçãs sobre o estado antioxidante e oxidação lipídica em humanos independe da genética desta fruta.

**Palavras-chave:** maçã, fenólicos totais, flavanóis totais, antocianinas, atividade antioxidante, estudo em humanos.

## ABSTRACT

The apple (*Malus domestica* Borkh) greatly consumed in worldwide is considered a fruit rich in phenolic compounds, which varies considerably among different cultivars, and also within different apple parts. The objectives of this study were to analyze the physical and chemical characteristics of different apple cultivars harvested in southern Brazil, in the 2008 and 2009 seasons; to compare the their phenolic compounds content and antioxidant activity in the flesh, whole fruit and peel and to investigate the effect of the acute intake of two apple cultivars on the antioxidant status and lipid oxidation in humans. Between the two seasons, were studied, in total, 22 apple cultivars harvested in the Experimental Station of the Rural Issues and Agricultural Research Institute of Santa Catarina. Dry matter, total soluble solids, pH, total sugars, titratable acidity, total phenolics, total flavanols, total monomeric anthocyanin and antioxidant activity were measured in the apple samples. The results showed great significant differences between the cultivars, in all parameters of the chemical composition. The total phenolic, total flavanol and total monomeric anthocyanin contents and the antioxidant activity measured by ABTS, DPPH and FRAP assays also significantly varied between the cultivars and were highest in the peels, followed by the whole fruit and the flesh. Independently of the season, the Catarina apple cultivar showed significantly the highest total phenolic, total flavanols and highest antioxidant activity, while that the Golden Delicious apple cultivar, in 2008 season, had the lowest levels of theses parameters. A positive relationship between total phenolic contents and antioxidant activity of the extracts; between total flavanol contents and antioxidant activity; and between total phenolic and total flavanol contents, in the flesh, whole fruit and peel were observed. Nine healthy woman, nonsmoking volunteers, participated in a single-dosing, controlled trial to investigate the effect of the acute intake of 300 mL of Golden Delicious apple juice, Catarina apple juice or water on the antioxidant status and lipid oxidation in humans. One h after intake of both apple juices, a significant acute increase in the serum of the antioxidant capacity, ascorbic acid and uric acid, and decrease of the lipid oxidation were observed compared with control group that only water intake. No significant difference was observed between the effects of the intake of Golden Delicious apple juice and Catarina apple juice; however, a significant difference among both apple juices and water was observed. Total phenolics serum levels were unaffected by the ingestion of Golden

Delicious, Catarina and water. No significant effect on *ex vivo* lipid oxidation was observed. After intervention with Golden Delicious e Catarina apple juice, the increase of the serum antioxidant capacity and at decrease of the serum lipid oxidation were highly related with the increase in the uric acid serum levels. Serum ascorbic acid increase did not significantly influence the increase of the antioxidant capacity and the decrease of the serum lipid oxidation. The results suggested that genotype is the main factor that determines the chemical composition of apples, specially the phenolic compounds content. However the effect of the acute intake of apples on the antioxidant status and lipid oxidation in humans is independent of the genotype of the fruit.

**Keywords:** apple, total phenolics, total flavanols, anthocyanins, antioxidant activity, human study.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

Figura 1	Origem e estrutura básica dos frutos de maçã	32
----------	--	----

### CAPÍTULO 3

Figura 1	Antocianinas monoméricas totais (mg cianidina-3-galactosídeo 100 g <sup>-1</sup> ) na casca de onze cultivares de maçã.	81
Figura 2	Relação entre fenólicos totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP na polpa (A), fruta inteira (B) e casca (C) de onze cultivares de maçã.	85
Figura 3	Relação entre flavanóis totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP na polpa (A), fruta inteira (B) e casca (C) de onze cultivares de maçã.	87
Figura 4	Relação entre flavanóis totais e fenólicos totais na polpa (A), fruta inteira (B) e casca (C) de onze cultivares de maçã.	88

### CAPÍTULO 4

Figura 1	Antocianinas monoméricas totais (mg cianidina-3-galactosídeo 100 g <sup>-1</sup> ) na casca de quinze cultivares de maçã.	112
Figura 2	Relação entre fenólicos totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP na polpa (A), fruta inteira (B) e casca (C) de quinze cultivares de maçã.	118
Figura 3	Relação entre flavanóis totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP na polpa (A), fruta inteira (B) e casca (C) de quinze cultivares de maçã.	119
Figura 4	Relação entre flavanóis totais e fenólicos totais na polpa (A), fruta inteira (B) e casca (C) de quinze cultivares de maçã.	120

**CAPÍTULO 5**

Figura 1	Modificações na atividade antioxidante sérica em humanos, medida pelos métodos ABTS e FRAP, 1 hora após o consumo do suco de maçã cultivar Golden Delicious, cultivar Catarina ou água.	138
Figura 2	Modificações na concentração sérica de fenólicos totais, ácido ascórbico e ácido úrico, 1 hora após o consumo de suco de maçã cultivar Golden Delicious, cultivar Catarina ou água.	139
Figura 3	Modificações na concentração sérica de hidroperóxidos lipídicos (HL) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) 1 hora após o consumo de suco de maçã cultivar Golden Delicious, cultivar Catarina ou água.	141
Figura 4	Efeito do consumo de suco de maçã cultivar Golden Delicious, cultivar Catarina ou Água sobre a oxidação lipídica <i>ex vivo</i> medida pelos hidroperóxidos lipídicos.	143
Figura 5	Efeito do consumo agudo de suco de maçã cultivar Golden Delicious, cultivar Catarina ou Água sobre a oxidação lipídica <i>ex vivo</i> medida pelo TBARS.	144



## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

Tabela 1	Produção nacional, regional e estadual de maçãs nas safras de 2008 e 2009.	31
Tabela 2	Composição química da maçã cultivar Fuji produzida no Brasil (por 100 g da parte comestível).	37

### CAPÍTULO 2

Tabela 1	Matéria seca, sólidos solúveis totais (SST), pH, açúcares totais, acidez titulável e relação açúcar/ácido de seis cultivares de maçãs.	59
Tabela 2	Fenólicos totais (FT), antocianinas monoméricas totais (AMT) e atividade antioxidante <i>in vitro</i> (AA) de seis cultivares de maçãs.	62

### CAPÍTULO 3

Tabela 1	Matéria seca, sólidos solúveis totais (SST), pH, açúcares totais (AT), acidez total titulável (ATT) e relação açúcar/ácido de onze cultivares de maçãs.	77
Tabela 2	Fenólicos totais (mg EAG 100g <sup>-1</sup> ) na polpa, fruta inteira e casca de onze cultivares de maçãs.	79
Tabela 3	Flavanóis totais (mg catequina 100 g <sup>-1</sup> ) na polpa, fruta inteira e casca de onze cultivares de maçãs.	80
Tabela 4	Atividade antioxidante (método ABTS, μMol TEAC 100g <sup>-1</sup> ) na polpa, fruta inteira e casca de onze cultivares de maçãs.	82
Tabela 5	Atividade antioxidante (método DPPH, μMol TEAC 100g <sup>-1</sup> ) na polpa, fruta inteira e casca de onze cultivares de maçãs.	83

Tabela 6	Atividade antioxidante (método FRAP, $\mu\text{Mol TEAC } 100\text{g}^{-1}$ ) na polpa, fruta inteira e casca de onze cultivares de maçãs.	84
----------	--	----

## CAPÍTULO 4

Tabela 1	Matéria seca, sólidos solúveis totais (SST), pH, açúcares totais, acidez titulável e relação açúcar/ácido de quinze cultivares de maçãs.	107
Tabela 2	Fenólicos totais ( $\text{mg EAG } 100\text{g}^{-1}$ ) na polpa, fruta inteira e casca de quinze cultivares de maçãs.	109
Tabela 3	Flavanóis totais ( $\text{mg catequina } 100\text{g}^{-1}$ ) na polpa, fruta inteira e casca de quinze cultivares de maçãs.	111
Tabela 4	Atividade antioxidante (método ABTS, $\mu\text{Mol TEAC } 100\text{g}^{-1}$ ) na polpa, fruta inteira e casca de quinze cultivares de maçã.	114
Tabela 5	Atividade antioxidante (método DPPH, $\mu\text{Mol TEAC } 100\text{g}^{-1}$ ) na polpa, fruta inteira e casca de quinze cultivares de maçã.	115
Tabela 6	Atividade antioxidante (método FRAP, $\mu\text{Mol TEAC } 100\text{g}^{-1}$ ) na polpa, fruta inteira e casca de quinze cultivares de maçã.	116

## CAPÍTULO 5

Tabela 1	Concentração de compostos fenólicos, vitamina C e atividade antioxidante do suco de maçã Golden Delicious e Catarina.	136
----------	---	-----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAPH	2,2 azobis amidinopropano
ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico
AMP	Adenosina Monofosfato
AMT	Antocianinas Monoméricas Totais
ATP	Adenosina Trifosfato
CuCl <sub>2</sub>	Cloreto de Cobre II
DMACA	p-dimetilaminocinamaldeído
DNA	<i>Desoxiribonucleic Acid</i> (Ácido Desoxiribonucleico)
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
EAG	Equivalente a Ácido Gálico
EPAGRI/SC	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
ERN	Espécies Reativas de Nitrogênio
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
FOX	<i>Fe<sup>+3</sup> xlenol orange</i> (Alaranjado de xilenol)
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Potential</i> (Potencial Antioxidante Redutor Férrico)
FT	Fenólicos Totais
HCl	Ácido Clorídrico
HL	Hidroperóxidos Lipídicos
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL	<i>Low-Density Lipoprotein</i> (Lipoproteína de Baixa Densidade)
mg	Miligrama
min	Minutos
mL	Mililitro
nm	Nanômetros
SST	Sólidos Solúveis Totais
TBARS	<i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</i> (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico)
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEAC	<i>Trolox Equivalent Antioxidant Capacity</i> (Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox)
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
μL	Micro litro



## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b>	25
<b>CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	29
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	30
1.1 Produção de maçãs no Brasil e em Santa Catarina	30
1.2 Botânica e fisiologia da macieira	31
1.3 Melhoramento genético de macieiras	33
1.4 Características químicas de maçãs	36
1.5 Compostos fenólicos e atividade antioxidante <i>in vitro</i> de maçãs	37
1.6 Atividade antioxidante <i>in vivo</i> após consumo de maçã	40
2 Referências	43
<b>CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i> DE SEIS CULTIVARES DE MAÇÃS (<i>MALUS DOMESTICA</i> BORKH)</b>	51
Resumo	52
Abstract	53
1 Introdução	54
2 Material e Métodos	55
2.1 Amostras e reagentes	55
2.2 Caracterização físico-química	55
2.3 Procedimento de extração	56
2.4 Conteúdo de fenólicos totais	56
2.5 Conteúdo de antocianinas monoméricas totais	56
2.6 Atividade antioxidante	57
2.7 Análises estatísticas	57
3 Resultados e Discussão	58
3.1 Análises físico-químicas	58
3.2 Conteúdo de fenólicos e antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante	60
4 Conclusões	62
5 Referências	63

### **CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE ONZE CULTIVARES DE MAÇÃS (*Malus domestica* Borkh)**

67

Resumo	68
Abstract	70
1 Introdução	72
2 Material e Métodos	73
2.1 Amostras e reagentes	73
2.2 Caracterização físico-química	73
2.3 Preparo dos extratos	74
2.4 Conteúdo de fenólicos e flavanóis totais	74
2.5 Conteúdo de antocianinas monoméricas totais	75
2.6 Atividade antioxidante	75
2.7 Análises estatísticas	76
3 Resultados	76
3.1 Características físico-químicas	76
3.2 Fenólicos, flavanóis e antocianinas monoméricas totais	77
3.3 Atividade antioxidante	81
4 Discussão	89
5 Conclusões	93
6 Referências	93

### **CAPÍTULO 4 - COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE POLIFENÓIS NA POLPA, FRUTA INTEIRA E CASCA DE QUINZE CULTIVARES DE MAÇÃS (*Malus Domestica* Borkh)**

97

Resumo	98
Abstract	100
1 Introdução	102
2 Material e Métodos	103
2.1 Amostras e reagentes	103
2.2 Caracterização físico-química	104
2.3 Preparo dos extratos	104
2.4 Conteúdo de fenólicos e flavanóis totais	105
2.5 Conteúdo de antocianinas monoméricas totais	105
2.6 Atividade antioxidante	105
2.7 Análises estatísticas	106
3 Resultados e Discussão	106

	23
3.1 Análises físico-químicas	106
3.2 Fenólicos, flavanóis e antocianinas monoméricas totais	108
3.3 Atividade antioxidante	112
4 Conclusões	121
5 Referências	121

<b>CAPÍTULO 5 - EFEITO DO CONSUMO AGUDO DE MAÇÃ (<i>MALUS DOMESTICA</i> BORKH) DE DUAS DIFERENTES CULTIVARES SOBRE O ESTADO ANTIOXIDANTE E OXIDAÇÃO LIPÍDICA EM HUMANOS</b>	125
---	-----

Resumo	126
Abstract	128
1 Introdução	130
2 Material e Métodos	131
2.1 Reagentes	131
2.2 Cultivares de maçã	131
2.3 Compostos fenólicos, ácido ascórbico e atividade antioxidante dos sucos de maçã	132
2.4 Casuística e desenho do estudo	133
2.5 Análises bioquímicas	134
2.6 Oxidação lipídica <i>ex vivo</i>	135
2.7 Análises estatísticas	135
3 Resultados	136
3.1 Compostos fenólicos, ácido ascórbico e atividade antioxidante <i>in vitro</i> do suco de maçã	136
3.2 Efeito do consumo agudo do suco de maçã sobre o estado antioxidante sérico	137
3.3 Efeito do consumo de suco de maçã sobre a oxidação lipídica sérica	140
3.4 Efeito do consumo de suco de maçã sobre a oxidação lipídica <i>ex vivo</i>	141
4 Discussão	144
5 Referências	148

<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	153
-----------------------------	-----

**ANEXOS**

155

ANEXO A - Características das cultivares de macieiras estudadas. 157

ANEXO B - Resumo apresentado no XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 161

ANEXO C - Artigo completo publicado “Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh)”. *Scientia Horticulturae*, v. 122, p. 421-425, 2009. 163

ANEXO D - Artigo completo publicado “Activity and contents of polyphenolic antioxidants in the whole fruit, flesh and peel of three apple cultivars”. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, v 59, p. 101-106, 2009. 165

ANEXO E - Comprovante de submissão de artigo para a revista LWT - Food Science and Technology. 167

ANEXO F - Parecer de aprovação pelo comitê de ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC 169



## INTRODUÇÃO

No Brasil, o cultivo da maçã se concentra na Região Sul. Santa Catarina é o maior produtor contribuindo com aproximadamente 51% da produção nacional, predominando as cultivares Gala e Fuji. Recentemente, depois de estudadas e avaliadas pelo programa de melhoramento genético da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI/SC) nas Estações Experimentais de Caçador e São Joaquim, foram introduzidas outras cultivares no mercado brasileiro, no intuito de complementar a produção das tradicionais cultivares Gala e Fuji com frutos mais coloridos ou com diferentes períodos de maturação e bem adaptadas às condições climáticas de cada região, tais como a Fuji Precoce, Fuji Suprema, Fuji Kiku 8, Daiane e Imperatriz. Entretanto, apesar da excelente qualidade dos frutos, estas cultivares apresentam um grande inconveniente que é a susceptibilidade a doenças, principalmente à sarna, causada pelo fungo *Venturia inaequalis*. Por esta razão, a EPAGRI/SC, nas Estações Experimentais de Caçador e São Joaquim, através de seu programa de melhoramento genético tradicional, está desenvolvendo novas cultivares, tais como a Catarina, Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub>, Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> e Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>283</sub>, melhor adaptadas às condições climáticas do Estado de Santa Catarina, com forte apelo comercial e resistentes à sarna e a outras doenças (PEREIRA et al., 2003).

A maçã (*Malus sp*) muito consumida em diversas regiões do mundo é considerada uma fruta rica em compostos fenólicos (BOYER; LIU, 2004). A concentração destes compostos em maçãs varia grandemente dependendo da cultivar, parte da fruta, estágio de maturação, local de cultivo, ano e época da colheita (VAN DER SLUIS et al., 2001; TSAO et al., 2003; WOLFE et al., 2003; CHINNICI et al., 2004; MCGHIE et al., 2005; SCALZO et al., 2005; D'ABROSCA et al., 2007; LATA; TOMALA, 2007; PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; KHANIZADEH et al., 2008; WOJDYLO et al., 2008). De acordo com diversos autores, o conteúdo de fenólicos totais, flavanóis totais e a atividade antioxidante *in vitro* é particularmente maior na casca de maçãs do que na fruta inteira e na polpa (EBERHARDT et al., 2000; WOLFE et al., 2003; CHINNICI et al., 2004; D'ABROSCA et al., 2007; PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; KHANIZADEH et al., 2008; WOJDYLO et al., 2008).

O consumo regular de maçã tem sido associado à prevenção de diversas doenças crônicas, tais como doença cardiovascular (SESSO et

al., 2003), doença pulmonar obstrutiva crônica (GARCIA et al., 2005), câncer de pulmão (LE MARCHAND et al., 2000), câncer de mama (DI PIETRO et al., 2007), entre outros. Além disso, após o consumo agudo de maçã tem-se observado um aumento significativo da atividade antioxidante no sangue de indivíduos saudáveis (BITSCH et al., 2001; LOTITO; FREI, 2004a; KO et al., 2005). O mecanismo pelo qual os compostos fenólicos em frutas e verduras podem reduzir o risco de doenças crônicas não transmissíveis ainda não foi completamente elucidado. *In vitro*, tem sido demonstrado que os compostos fenólicos presentes em extratos de maçã são os responsáveis pelo elevado potencial antioxidante destes (LEE et al., 2003; TSAO et al., 2005; D'ABROSCA et al., 2007; WOJDYLO et al., 2008). Apesar de vários estudos *in vitro* demonstrarem que o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante variam grandemente entre as cultivares de maçãs (EBERHARDT et al., 2000; WOLFE et al., 2003; CHINNICI et al., 2004; D'ABROSCA et al., 2007; PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; KHANIZADEH et al., 2008; WOJDYLO et al., 2008), na literatura não foi encontrado nenhum estudo que tenha avaliado o efeito do consumo de uma única dose (consumo agudo) de maçã de diferentes cultivares com diferentes concentrações de fenólicos e atividade antioxidante *in vitro*. Considerando que os alimentos ricos em compostos fenólicos exercem efeitos benéficos sobre a saúde humana e que os mecanismos destes efeitos ainda não estão completamente esclarecidos, investigar o efeito do consumo agudo de cultivares de maçã com diferentes concentrações de fenólicos e atividade antioxidante, sobre a modulação do estado antioxidante e a oxidação lipídica *in vivo*, pode ajudar a esclarecer este mecanismo.

O estudo comparativo sobre os parâmetros de qualidade química e bioquímica, entre frutos de cultivares comerciais produzidas em grande escala e de novas cultivares ainda em processo de avaliação poderá contribuir para a introdução, nos pomares brasileiros, de cultivares resistentes, com boa produtividade e de forte apelo comercial. Além disso, nos últimos anos, em função das evidências do efeito protetor de frutas ricas em compostos fenólicos e de elevada atividade antioxidante, contra o desenvolvimento de diversas doenças crônicas, tem aumentado cada vez mais a preocupação do consumidor em adquirir alimentos frescos cultivados com menor quantidade de agrotóxicos. Neste sentido, e considerando ainda a crescente produção e consumo de maçã no Brasil, principalmente em Santa Catarina, ressalta-se a importância da realização deste trabalho que tem como objetivos avaliar a atividade antioxidante *in vitro* e o efeito do consumo agudo sobre a atividade

antioxidante e a oxidação lipídica *in vivo* de maçãs de diferentes cultivares do estado de Santa Catarina.

Neste trabalho foram estudadas apenas as cultivares de macieiras fornecidas pelas Estações Experimentais da EPAGRI de Caçador e São Joaquim, conforme disponibilidade de amostras e do interesse da instituição. Foram estudadas cultivares já potencialmente comercializadas como a Gala e a Fuji, assim como novas cultivares com algum potencial de interesse comercial imediato ou com perspectivas para o futuro, que estão sendo ou já foram testadas ou avaliadas pelas Estações Experimentais da EPAGRI de Caçador e São Joaquim (ANEXO A).

Neste sentido, este trabalho é apresentado na forma de capítulos, divididos nas seguintes abordagens:

Capítulo 1: Revisão bibliográfica.

Neste capítulo foi realizada a revisão dos temas relevantes que embasaram a realização deste estudo.

Capítulo 2: Caracterização físico-química e atividade antioxidante *in vitro* de seis cultivares de maçãs (*Malus domestica* Borkh).

Neste capítulo foram analisadas e comparadas as características físico-químicas e a atividade antioxidante de seis cultivares de maçãs colhidas na Estação Experimental da EPAGRI de Caçador no ano de 2008.

Capítulo 3: Caracterização físico-química e atividade antioxidante *in vitro* de onze cultivares de maçãs (*Malus domestica* Borkh).

Neste capítulo foram analisadas as características físico-químicas de onze cultivares de maçã colhidas na Estação Experimental da EPAGRI de São Joaquim no ano de 2008 e comparados o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante na polpa, fruta inteira e casca destas cultivares.

Capítulo 4: Composição físico-química e atividade antioxidante de polifenóis na polpa, fruta inteira e casca de quinze cultivares de maçãs (*Malus domestica* Borkh).

Neste capítulo foram determinadas a composição físico-química de quinze cultivares de maçã colhidas na Estação Experimental da EPAGRI de São Joaquim no ano de 2009 e analisadas a atividade antioxidante e o conteúdo de compostos fenólicos na polpa, fruta inteira e casca destas cultivares.

Capítulo 5: Efeito do consumo agudo de suco de maçã (*Malus Domestica* Borkh) de duas cultivares sobre o estado antioxidante e oxidação lipídica em humanos.

Neste capítulo foram comparados o conteúdo de compostos

fenólicos, ácido ascórbico e a capacidade antioxidante do suco de duas cultivares de maçã, a Golden Delicious e Catarina, e determinados os efeitos do seu consumo agudo (uma única dose) sobre o estado antioxidante e a oxidação lipídica em humanos.

## **CAPÍTULO 1**

### **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## 1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 Produção de maçãs no Brasil e em Santa Catarina

A maçã é uma das frutas mais cultivadas e consumidas em todo o mundo, com mais de 7.500 espécies e cultivares. É plantada em todos os continentes, com maior concentração na Ásia (60% da área cultivada) (ABPM, 2009).

No Brasil, entre as frutas de clima temperado, a maçã é a que apresentou maior expansão em área plantada e em volume de produção nos últimos trinta anos (BONETI et al., 2002a). De um total de 1 528 toneladas em 1974, a quantidade produzida aumentou para 1 184 299 toneladas em 2009 (IBGE, 2009). A cultura da maçã é uma atividade econômica relevante no Brasil, com repercussão no cenário internacional, sendo o terceiro maior produtor da América do Sul, contribuindo com aproximadamente 1,5 % da produção mundial (ABPM, 2009).

Com a evolução do setor e o aumento da competitividade, as regiões produtoras estão cada vez mais concentradas em locais que apresentam algumas vantagens comparativas que permitam alta produtividade, elevado índice de qualidade e estrutura de comercialização. Neste contexto, no Brasil, a produção de maçã se concentra nas regiões elevadas dos estados sulinos, compreendendo o sul do Paraná, a Região Serrana e o meio oeste do Estado de Santa Catarina e a Serra Gaúcha no norte do Estado do Rio Grande do Sul (ABPM, 2009) (Tabela 1). Os estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul são os principais produtores, sendo responsáveis por aproximadamente 95 % da produção nacional (Tabela 1) (IBGE, 2009).

Santa Catarina produz aproximadamente 51 % do total da produção nacional. Fraiburgo é o município maior produtor de maçãs do País, seguido de São Joaquim e Lebon Régis. Localizado a 1400 metros de altitude, no Planalto Catarinense, São Joaquim apresenta as melhores condições climáticas para o cultivo de macieiras, pois permite naturalmente a ocorrência da quebra de dormência das plantas e a conseqüente indução da brotação (BONETI et al., 2002a). O Rio Grande do Sul contribui com aproximadamente 44 % do total da produção do País. O município de Vacaria é o maior produtor, porém, o cultivo da maçã também é expressivo nos municípios de Bom Jesus, São Francisco de Paula, Cambará do Sul, Antônio Prado, Caxias do Sul, Ipê e Lagoa Vermelha. Na região de Palmas, no sul do estado do Paraná, encontra-se o terceiro maior pólo produtor de maçãs do País, representando 3,5 % da

produção nacional. No Estado de São Paulo a cultura da macieira está disseminada por várias regiões, dentre as quais se destaca Paranapanema, Itapeva, Buri e Piedade que juntas contribuem com menos de 0,2 % da produção nacional (IBGE, 2009).

**Tabela 1** Produção nacional, regional e estadual de maçãs nas safras de 2008 e 2009.

<b>Região /Ano</b>	<b>2008 (toneladas)</b>	<b>2009 (toneladas)</b>
<b>SUL</b>		
Paraná	41 800	39 600
Santa Catarina	562 989	586 297
Rio Grande do Sul	514 717	556 560
<b>Subtotal</b>	<b>1 119 506</b>	<b>1 182 457</b>
<b>SUDESTE</b>		
São Paulo	1 962	1 842
<b>Subtotal</b>	<b>1 962</b>	<b>1 842</b>
<b>TOTAL NO BRASIL</b>	<b>1 121 468</b>	<b>1 184 299</b>

Fonte: IBGE (2009).

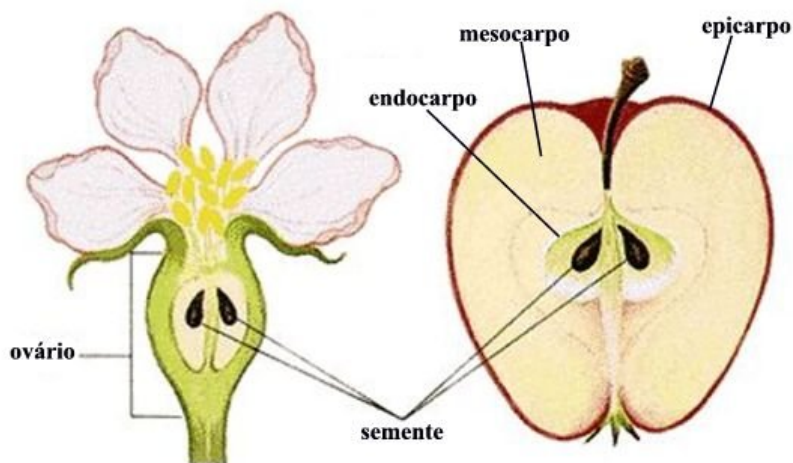
A produção brasileira de macieiras é composta por cultivares comerciais produtoras e polinizadoras, ambas melhoradas e selecionadas para atender ao mercado *in natura*. As principais cultivares brasileiras em termos de área plantada e produção são a Gala (46%), a Fuji (45%) e a Golden Delicious (4%), que juntas correspondem a 95% da produção total (BONETI et al., 2002a).

## 1.2 Botânica e fisiologia da macieira

A macieira é uma planta de fruteira lenhosa, decídua, temperada que é muito adaptável a diferentes climas, crescendo desde os trópicos até as altas latitudes. Pertence à família das Rosaceae que abrange cerca de 100 gêneros e mais de 2 000 espécies espalhadas por todo mundo. Dentro desta família a forma do receptáculo floral, o número, a posição relativa dos carpelos e o caráter dos frutos variam largamente, servindo de fatores de distinção entre as subfamílias. A macieira pertence à subfamília Pomoideae, caracterizada por um profundo receptáculo em forma de taça, cujas paredes inferiores se unem aos carpelos, os quais se unem também entre si e contém geralmente dois óvulos. O fruto é um pomo, constituído por grande receptáculo carnudo que envolve os

ovários, cujo endocarpo é coriáceo ou pétreo e contém uma única semente (LUCHI, 2002). Neste sentido, a maçã constitui um pseudofruto, uma vez que sua porção carnosa se origina do receptáculo da flor, sendo que o verdadeiro fruto é a parte interna que envolve as sementes (Figura 1).

Os frutos da macieira apresentam estrutura básica constituída de semente e pericarpo, este último por sua vez compõe-se de três partes básicas: endocarpo, mesocarpo e epicarpo (GOMES, 2007) (Figura 1). Neste trabalho, por já serem popularmente conhecidos, o mesocarpo, a parte suculenta e carnosa, foi designado como polpa e o epicarpo, a camada mais externa do fruto foi designado como casca.



**Figura 1** Origem e estrutura básica dos frutos de maçã.

Fonte: Gomes (2007).

A macieira já foi denominada por vários nomes científicos como: *Pyrus malus* Lineu, *Malus pumila* Miller, *Malus sylvestris* Miller, *Malus malus* Britton, *Malus communis* Poirlet e *Malus domestica* Borkhausen, este último proposto em 1803. Para o Código Internacional de Nomenclatura Botânica, *Malus domestica* Borkhausen é a primeira denominação válida para a macieira cultivada, anulando todas as denominações publicadas posteriormente (LUCHI, 2002).

A macieira caracteriza-se pela queda das folhas no final do ciclo vegetativo e a consequente entrada em dormência. A dormência é um fenômeno biológico que ocorre em sementes, tubérculos, bulbos e gemas, principalmente em fruteiras de clima temperado. Durante o



período de dormência da macieira, onde as condições climáticas não são favoráveis ao crescimento, a macieira ainda apresenta atividade fisiológica, embora em níveis mínimos. Esta inatividade fisiológica permite a sua sobrevivência em condições de baixas temperaturas. Durante esta fase, reações bioquímicas específicas ocorrem no interior da planta, as quais são essenciais para iniciar um novo ciclo de crescimento. A dormência das gemas é governada por condições genéticas e ambientais que afetam a concentração das substâncias reguladoras de crescimento, as quais controlam as mudanças metabólicas da entrada e saída da dormência. Assim, para que a macieira inicie novo ciclo vegetativo, ou seja, para que a brotação e a floração ocorram normalmente na primavera, é necessário que esta seja exposta a um período onde as temperaturas sejam inferiores a 7,2 °C durante o inverno, sendo este período variável em função da cultivar. Atualmente existem cultivares com exigências de 200 a 1 400 horas de frio. A regularidade e a intensidade das baixas temperaturas são fundamentais, pois oscilações durante o período de dormência podem fazer com que a planta permaneça por um maior período em dormência ou que ocorram brotação e floração desuniformes com grande parte das gemas permanecendo dormentes. Neste sentido, as baixas temperaturas do outono e inverno constituem o fator ambiental mais importante que induz a planta a entrar em dormência. Estando a planta em dormência sob a ação contínua de baixas temperaturas por um determinado período, naturalmente ocorrerá a sua saída da dormência. Desta maneira, as baixas temperaturas desempenham dupla função no ciclo das macieiras, a de induzir e terminar a dormência, permitindo nova brotação (PETRI et al., 2002).

### **1.3 Melhoramento genético de macieiras**

Dentre as características agronômicas necessárias para o sucesso na produção de maçãs de alta qualidade e baixo custo, a boa adaptação climática e a resistência aos principais organismos fitopatogênicos locais, figuram entre as mais importantes (DENARDI, 2007).

A maçã é um dos poucos produtos comercializados pelo nome da cultivar. Disto resulta que o sucesso na comercialização de qualquer cultivar de macieira depende da sua boa aceitação por parte do consumidor. Por sua vez, isto determinará o interesse dos produtores pelo plantio comercial de uma determinada cultivar. Existem diversas cultivares de macieiras distribuídas pelo mundo e a tendência mundial é concentrar um número menor destas, com características mais

aceitáveis. No Brasil, em especial em Santa Catarina, já foram testadas mais de 500 cultivares oriundas de outros países. Com raras exceções, estas não se adaptaram às condições climáticas que ocorrem nas regiões produtoras do sul do Brasil com menos de 1400 m de altitude, tais como a cidade de Caçador. Isso se deve, principalmente, à baixa quantidade de frio no inverno, nestas regiões, que varia entre 400 e 800 horas com temperaturas em torno de 7,2 °C (CAMILO; DENARDI, 2002). Assim, a quantidade de frio hibernar no sul do Brasil não é suficiente para satisfazer o requerimento em frio da grande maioria de cultivares de macieiras criadas em outros países (DENARDI, 2007).

Por outro lado, as condições de umidade e temperaturas elevadas durante o período de crescimento no sul do Brasil, são muito favoráveis às doenças da macieira (DENARDI, 2007). As doenças e as pragas são consideradas os principais problemas da cultura da macieira no Brasil (PEREIRA et al., 2003). As doenças fúngicas estão entre os fatores bióticos que mais limitam o rendimento agrônômico da cultura. Entre as mais importantes, pelos seus danos diretos e indiretos, pela regularidade e intensidade de ocorrência, destacam-se a sarna causada pelo fungo *Venturia inaequalis*, o oídio causado pelo fungo *Podosphaera leucotricha*, a mancha foliar da Gala causada pelo fungo *Collectotrichum spp.* e a podridão amarga causada pelo fungo *Glomerella cingulata* (BONETI, 2002b). A cultivar Gala, por exemplo, é susceptível a todas estas doenças e a Fuji à sarna e a podridão amarga (DENARDI, 2007).

No Brasil, a sarna constitui a principal doença da macieira, podendo causar perdas de até 100 % na produção quando não controlada adequadamente (PEREIRA et al., 2003). O controle químico dessas doenças ainda é o método mais comum efetuado pelos agricultores, o que acarreta um aumento do custo de produção e, também, o que mais provoca efeitos adversos, sobretudo quando não há uma devida assistência técnica. Neste sentido, o uso de cultivares resistentes consiste no método ideal de controle de doenças fúngicas (MCHARDY, 1996; BRUN et al., 2008). A utilização de cultivares de macieiras resistentes às doenças poderá reduzir o uso de fungicidas em mais de 80 %. Isto terá efeitos imediatos, não apenas na redução dos custos de produção, mas também na proteção à saúde do produtor e do consumidor e na preservação do meio ambiente (DENARDI et al., 2003).

Recentemente, várias cultivares resistentes às principais doenças fúngicas têm sido lançadas por instituições internacionais de pesquisa (KÜHN et al., 2003; QUAMME et al., 2005). Entretanto, na maioria dos casos, estas cultivares, apesar da resistência, não apresentam as

características agronômicas desejadas pelos consumidores brasileiros que preferem frutas vermelhas e de sabor doce (CAMILO; DENARDI, 2002).

Conforme já mencionado anteriormente, no Brasil as cultivares mais plantadas são a Gala e a Fuji. Após estudadas e analisadas pelo programa de melhoramento genético da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI/SC) nas Estações Experimentais de Caçador e São Joaquim, foram introduzidas novas cultivares no mercado brasileiro, tais como a Fuji Precoce, Fuji Suprema, Fuji Kiku 8, Daiane e Imperatriz, com a finalidade de complementar a produção das tradicionais cultivares Gala e Fuji com frutos mais coloridos ou com diferentes períodos de maturação e bem adaptadas às condições climáticas de cada região. Contudo, estas cultivares, apesar da excelente qualidade dos frutos, apresentam grande susceptibilidade a doenças, principalmente à sarna. Por esta razão, a EPAGRI/SC nas Estações Experimentais de Caçador e São Joaquim, vêm desenvolvendo um programa de melhoramento genético, através do processo tradicional de hibridação ou cruzamento, visando à obtenção de novas cultivares melhor adaptadas às condições climáticas do estado de Santa Catarina, com frutos mais coloridos e resistentes à sarna e a outras doenças (PEREIRA et al., 2003; DENARDI, 2007).

Segundo Denardi (2007) as pesquisas em melhoramento genético da macieira realizadas pela EPAGRI têm como objetivos específicos a incorporação de cultivares com menor exigência em frio hibernal e a elevada resistência às principais doenças. Estes objetivos estão sendo buscados por etapa, priorizando o que é considerado mais urgente. Em termos de frio hibernal, a meta é desenvolver cultivares com requerimento na faixa de 400 a 600 horas e em relação à resistência às principais doenças, têm como prioridade obter cultivares de alta resistência à mancha foliar da Gala e à sarna. A alta resistência ao oídio ainda não é uma demanda prioritária e a resistência à podridão amarga, embora prioritária, a EPAGRI ainda não dispõe de bom germoplasma de alta resistência para uso nas hibridações.

No Banco Ativo de Germoplasma de Pomáceas da EPAGRI, existe mais de 500 cultivares de macieira, entretanto, a grande maioria destas não tem interesse comercial para as condições climáticas sul-brasileiras. A principal importância desta coleção é servir de fonte de variabilidade genética para os trabalhos de melhoramento genético e obtenção de novas cultivares. Em face da continuidade e do sucesso das pesquisas na área de melhoramento genético realizadas pela Epagri/SC a introdução de novas cultivares de maçãs é um procedimento rotineiro na

#### 1.4 Características químicas de maçãs

De modo geral, as características químicas e nutricionais de frutas e hortaliças frescas são consequência dos fatores naturais onde estão instalados os pomares (solo, clima) e dos fatores agronômicos de produção da fruta, tais como, cultivares, tratos culturais, adubações, tratamentos fitossanitários e épocas de colheita (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Em função destes fatores e adicionalmente à exigência dos consumidores quanto à qualidade dos frutos que pode gerar um descarte de até 30% da produção, vários trabalhos sobre a caracterização química de maçãs frescas foram desenvolvidos (LATA, 2007; PETKOVSEK et al., 2007; WU et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008).

Na Tabela 2 está apresentada a composição química da maçã da cultivar Fuji, uma das cultivares produzidas em maior quantidade no Brasil. Estes resultados são provenientes de amostras representativas de frutas desta cultivar colhidas no País, cujas análises foram comprovadas através de estudos interlaboratoriais de competência analítica comprovada (NEPA-UNICAMP, 2006).

A maçã é um importante constituinte da dieta humana, e apesar de seu principal componente ser a água, como a maioria das frutas, é fonte de monossacarídeos, minerais, fibras, ácidos orgânicos, como o ácido málico, e vários compostos biologicamente ativos, tais como, vitamina C e compostos fenólicos. A composição química de maçãs depende fortemente da cultivar e a maturação das frutas está intimamente associada a sua qualidade nutricional e sensorial, tais como o sabor e a cor (WU et al., 2007).

Recentes estudos têm demonstrado que a cultivar da macieira pode substancialmente influenciar as características químicas, tais como o conteúdo de matéria seca, sólidos solúveis totais, pH, acidez total titulável, açúcares totais e compostos fenólicos (LATA, 2007; PETKOVSEK et al., 2007; WU et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008). Estes parâmetros constituem indicadores importantes de qualidade tanto para o consumidor quanto para a indústria alimentícia em termos do potencial das cultivares para consumo *in natura* ou processamento (DROGOUDI et al., 2008).

**Tabela 2** Composição química da maçã cultivar Fuji produzida no Brasil (por 100 g da parte comestível).

Componente	Quantidade
Umidade (g)	84,3
Energia (Kcal)	56
Proteína (g)	0,3
Lipídeo (g)	tr*
Carboidratos (g)	15,2
Fibra (g)	1,3
Cálcio (mg)	2
Magnésio (mg)	2
Fósforo (mg)	9
Potássio (mg)	75
Vitamina C (mg)	2,5

\*traços

Fonte: NEPA-UNICAMP (2006).

### 1.5 Compostos fenólicos e atividade antioxidante *in vitro* de maçãs

Diversos estudos têm demonstrado que a maçã constitui uma fruta rica em compostos fenólicos (TSAO et al., 2003; WOLFE et al., 2003; CHINNICI et al., 2004; McGHIE et al., 2005; SCALZO et al., 2005; D'ABROSCA et al., 2007; LATA; TOMALA, 2007; PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; KHANIZADEH et al., 2008). Os compostos fenólicos, constituintes de um amplo e complexo grupo de fitoquímicos, são produtos secundários do metabolismo vegetal, produzidos pelas plantas tanto em condições fisiológicas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, quanto em condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiações ultravioleta, dentre outros (BRAVO, 1998). Apresentam em sua estrutura um anel aromático com uma ou mais hidroxilas, o que possibilita atuarem como agentes antioxidantes, exercendo proteção contra as espécies reativas de oxigênio (ERO) e as espécies reativas de nitrogênio (ERN) (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000). Um agente antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixa concentração, comparada àquela do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo (HALLIWELL, 1996b). ERO e ERN incluem tanto os radicais livres de oxigênio e nitrogênio, respectivamente, os quais contêm um ou mais elétrons desemparelhados em sua órbita externa, quanto algumas espécies não radicalares, que são agentes oxidantes e/ou são facilmente

convertidas em radicais (HALLIWELL, 1996b; FANG et al., 2002).

Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização (BRAVO, 1998). Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (CROFT, 1998). Em maçãs, os compostos fenólicos podem ser classificados em compostos não-flavonóides e flavonóides. Ao primeiro grupo pertencem os ácidos fenólicos, dos quais os ácidos hidroxicinâmicos são os principais representantes (PETKOVSEK et al., 2007). Ao grupo dos flavonóides em maçãs pertencem as dihidrochalconas, flavonóis, flavanóis, assim como as antocianinas em cultivares vermelhas (LEE et al., 2003; TSAO et al., 2003, TSAO et al., 2005; WOJDYLO et al., 2008).

Dentre os ácidos hidroxicinâmicos, o ácido clorogênico tem sido o ácido identificado em maior quantidade tanto na polpa quanto na casca de diferentes cultivares de maçã (LEE et al., 2003; TSAO et al., 2003; PETKOVSEK et al., 2007).

As principais dihidrochalconas são a floridzina e a floretina e frequentemente estão associadas a açúcares como a glicose e a xiloglicose (TSAO et al., 2003). Os flavonóis, considerados quantitativamente a menor classe de compostos fenólicos em maçãs, são encontrados majoritariamente na casca e frequentemente ligados a açúcares, tais como a galactose, glicose, raminose, arabinose e xilose, sendo a quercitina 3-glicosídeos os principais representantes deste grupo (WOJDYLO et al., 2008). Os flavan-3-óis são os principais flavanóis e quantitativamente a maior classe de compostos fenólicos presentes na maçã tanto na casca quanto na polpa, podendo ser encontrados nas formas monoméricas, (+)-catequina e a (-)-epicatequina, e em vários oligômeros e polímeros destas estruturas monoméricas, sendo os dímeros, as procianidinas B1 e B2, as de maior destaque em maçãs (TSAO et al., 2005). A cianidina 3-galactosídeo constitui a antocianina presente em maior quantidade em cultivares de maçãs vermelhas ou parcialmente vermelhas sendo responsável pela coloração característica das mesmas (TSAO et al., 2005; IGLESIAS et al., 2008). O conteúdo de antocianinas constitui um importante parâmetro de qualidade de maçãs, devido à importância destes compostos em relação à cor dos frutos e de seus respectivos produtos (IGLESIAS et al., 2008).

Diversos estudos têm reportado que em maçãs o conteúdo de compostos fenólicos apresenta grandes variações conforme a cultivar, parte da fruta, estágio de maturação, local de cultivo, ano e época da colheita analisada (VAN DER SLUIS et al., 2001; TSAO et al., 2003; WOLFE et al., 2003; CHINNICI et al., 2004; McGHIE et al., 2005;

SCALZO et al., 2005; D'ABROSCA et al., 2007; LATA; TOMALA, 2007; PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; KHANIZADEH et al., 2008; WOJDYLO et al., 2008). Em relação à parte da fruta analisada, a concentração de fenólicos e flavanóis totais e a atividade antioxidante *in vitro* é consideravelmente maior na casca de maçãs do que na fruta inteira e na polpa (EBERHARDT et al., 2000; WOLFE et al., 2003; CHINNICI et al., 2004; D'ABROSCA et al., 2007; PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; KHANIZADEH et al., 2008; WOJDYLO et al., 2008). Wolfe et al. (2003) reportaram valores de fenólicos totais na polpa, fruta inteira e casca de quatro cultivares de maçãs colhidas nos Estados Unidos entre 75,7 – 103,2; 119,0 – 159,0 e 309,1 – 588,9 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> peso fresco, respectivamente. Eberhardt et al. (2000) encontraram valores de fenólicos totais na polpa e fruta inteira de maçãs da cultivar Red Delicious, a principal cultivar plantada e consumida nos Estados Unidos, na ordem de 219,8 e 290,2 mg de equivalente a ácido gálico (EAG) 100 g<sup>-1</sup> peso fresco, respectivamente.

Paralelamente à variação observada no conteúdo de compostos fenólicos vários estudos prévios observaram que a maçã apresenta elevada atividade antioxidante *in vitro* e que estes valores variam entre as cultivares e as partes das frutas analisadas (EBERHARDT et al., 2000; WOLFE et al., 2003; CHINNICI et al., 2004; D'ABROSCA et al., 2007; PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; KHANIZADEH et al., 2008; WOJDYLO et al., 2008). Segundo Wojdylo et al. (2008) as diferenças observadas na atividade antioxidante *in vitro* entre as cultivares podem ser preliminarmente atribuída a seus diferentes conteúdos em compostos fenólicos.

Petkovsek et al. (2007) observaram que algumas cultivares resistentes à sarna, apresentaram maior conteúdo de compostos fenólicos em comparação a cultivares susceptíveis à doença. A razão pela qual cultivares de maçãs resistentes à sarna exibem maior conteúdo de fenólicos e atividade antioxidante *in vitro* mais elevada é provavelmente genética, e também devido às macieiras serem expostas a diferentes níveis de estresse nos pomares, tais como doenças, pragas e falta de minerais, os quais induzem o acúmulo de compostos fenólicos (SCALZO et al., 2005; PETKOVSEK et al., 2007). Tem sido sugerido que os compostos fenólicos atuam como fatores químicos da resistência da macieira à diversas doenças, em função da elevada atividade antioxidante e antifúngica destes compostos (HRAZDINA, 2003). Segundo Usenik et al. (2004), a composição fenólica do tecido de uma planta pode determinar o nível de susceptibilidade ou tolerância a

infecções fúngicas e outras doenças. Tem sido proposto também que o conteúdo de flavanóis totais na casca de cultivares de maçãs resistentes à sarna pode ser até três vezes maior do que na casca de cultivares suscetíveis a essa doença (MAYR et al., 2008).

## **1.6 Atividade antioxidante *in vivo* após consumo de maçã**

O consumo regular de alimentos ricos em flavonóides, em particular frutas e verduras, tem sido associado à menor incidência de doenças cardiovasculares, câncer e outras doenças crônicas (DAUCHET et al., 2005; MIRMIRAN et al., 2009; ZHANG et al., 2009). A maçã constitui uma das principais fontes de flavonóides na Alimentação Ocidental, juntamente com chá, vinho, cebola e chocolate (LOTITO; FREI, 2004b). O elevado consumo de maçãs tem sido relacionado a um menor risco de doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 e câncer (SONG et al., 2005; DI PIETRO et al., 2007; AUCLAIR et al., 2008).

O desenvolvimento de diversas DCNT tem sido associado ao aumento do estresse oxidativo no organismo (FANG et al., 2002). O estresse oxidativo é um termo utilizado para caracterizar o desequilíbrio entre as concentrações das ERO e ERN e os mecanismos de defesa antioxidante do organismo, que resulta em dano oxidativo a biomoléculas como o ácido desoxiribonucléico (DNA), lipídeos e proteínas (SIES, 1986; DOTAN et al., 2004). Estes danos podem provocar uma variedade de conseqüências biológicas, incluindo a lesão tecidual, mutação, carcinogênese, comprometimento do sistema imunológico e morte celular (STOHS, 1996; MCCORD, 2000). O estresse oxidativo pode ocorrer pelo aumento dos pró-oxidantes (ERO e ERN) sem o concomitante aumento das defesas antioxidantes, porém em outras situações, os antioxidantes podem estar diminuídos sem o aumento das ERO e ERN; ou ainda, pode ocorrer uma situação muito mais crítica, em que há o aumento da concentração das ERO e ERN acompanhado de uma redução da proteção antioxidante (SIES, 1986; DOTAN et al., 2004).

A proteção do organismo contra o excesso de ERO e ERN abrange um sistema de defesa antioxidante, que pode ser produzido pelo próprio corpo ou absorvido através da dieta, tais como os flavonóides e outros compostos fenólicos (HALLIWELL, 1996a). Na proteção ao organismo, o sistema de defesa antioxidante pode atuar em duas linhas. O primeiro mecanismo de proteção atua como detoxificador das ERO e ERN, impedindo a sua formação e, conseqüentemente, o ataque sobre os lipídeos, proteínas, e as bases do DNA, evitando assim, a formação de



lesões e perda da integridade celular. O outro mecanismo de defesa tem a função de reparar as lesões provocadas pelas espécies reativas. Este processo relaciona-se com a remoção de danos da molécula de DNA e reconstituição das membranas celulares (SIES, 1993).

Os antioxidantes produzidos pelo corpo agem enzimaticamente, a exemplo da glutathione peroxidase (GPx), glutathione S-transferase (GST), glutathione redutase (GR) catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), que convertem as espécies reativas em outros radicais menos tóxicos, ou não enzimaticamente, a exemplo da glutathione reduzida (GSH), bilirrubina, ubiquinona, ácido úrico e proteínas ligadas ao ferro (transferrina e ferritina) (HALLIWELL, 1996a). Assim, os antioxidantes sintetizados pelo organismo são denominados antioxidantes endógenos e podem ser classificados em antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (SIES, 1993). Dentre outros antioxidantes biológicos não enzimáticos, o organismo utiliza também aqueles provenientes da dieta, ou exógenos, tais como o ácido ascórbico, a vitamina E, vitamina A, zinco, selênio, flavonóides e outros compostos fenólicos, além de compostos bioativos encontrados em plantas (FANG et al., 2002).

Entretanto, ainda não está completamente esclarecido o mecanismo pelo qual os compostos fenólicos em frutas e verduras podem proteger o organismo contra o aparecimento de diversas DCNT. Tem sido demonstrado que o elevado potencial antioxidante *in vitro* de extratos de maçã é devido aos compostos fenólicos presentes nestes extratos (LEE et al., 2003; TSAO et al., 2005; D'ABROSCA et al., 2007; WOJDYLO et al., 2008). Em função das DCNT estarem associadas ao aumento do estresse oxidativo e dos alimentos ricos em flavonóides, tais como a maçã, apresentarem elevada atividade antioxidante *in vitro*, *in vivo*, a hipótese mais defendida, é a de que os flavonóides provenientes da dieta exercem seus efeitos benéficos através do mecanismo de defesa antioxidante do organismo (LOTITO; FREI, 2006). Assim, apesar de ainda controverso, tem sido concebido que o efeito benéfico dos alimentos ricos em flavonóides está relacionado à ação antioxidante na proteção contra o dano oxidativo à macromoléculas biológicas, como lipídeos, proteínas e DNA (GERHAUSER, 2008). Embora alguns estudos não tenham demonstrado um efeito antioxidante a curto ou a longo prazo em humanos, após o consumo de frutas, verduras ou flavonóides isolados (MCANLIS et al., 1998; RECORD et al., 2001; YOUNG et al., 2001), outros estudos tem reportado tais efeitos, em particular um aumento agudo na atividade antioxidante sanguínea (KO et al., 2005; POLAGRUTO et al., 2007; JENSEN et al., 2008).

Estudos de intervenção de curta duração em humanos podem fornecer um indicativo do potencial efeito na promoção da saúde baseado na modulação de marcadores biológicos (GERHAUSER, 2008). Recentemente vários estudos têm focado na modulação do estado antioxidante, através da análise de antioxidantes individuais ou da atividade antioxidante total, e de marcadores da oxidação de macromoléculas, tais como lipídeos, após o consumo de maçã ou suco de maçã.

Maffei et al. (2007), ao avaliarem o efeito do consumo agudo de 600g de homogenato de maçã fresca da cultivar Red Delicious ou 500 mL de água sobre a atividade antioxidante medida pela técnica do 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico (ABTS), em seis voluntários, observaram um aumento significativo de 3,2% do ABTS, três horas após o consumo das maçãs. Após o consumo de água estes autores observaram que a atividade antioxidante permaneceu semelhante ao período basal.

Lotito e Frei (2004b) avaliaram o efeito do consumo agudo de cinco maçãs inteiras da cultivar Red Delicious e de placebo (composto livre de fenólicos, imitando a massa das cinco maçãs), por seis voluntários, sobre a atividade antioxidante medida pelo FRAP (potencial antioxidante redutor férrico), ácido ascórbico e ácido úrico. Estes autores observaram que uma hora após o consumo das maçãs estes parâmetros aumentaram respectivamente 12 %, 20 % e 35 %, enquanto que uma hora após o consumo de placebo, nenhuma modificação estatisticamente significativa foi observada. Além disso, Lotito e Frei (2004b) observaram ainda que as modificações ocorridas no FRAP foram relacionadas positivamente às modificações observadas na concentração de ácido úrico e nenhuma correlação com as mudanças ocorridas na concentração de ácido ascórbico após o consumo de maçã.

Briviba et al. (2007), avaliaram o efeito do consumo agudo de maçãs Golden Delicious cultivadas pelo sistema orgânico e convencional, por seis voluntários, sobre a atividade antioxidante *in vivo* e a oxidação *ex vivo* da LDL (*Low-density lipoprotein*). Em relação à atividade antioxidante, os autores observaram um aumento de 10 % e 8 % do ácido úrico sérico uma hora após o consumo de Golden Delicious convencional e orgânica, respectivamente. Na análise da oxidação *ex vivo* o consumo da maçã Golden Delicious pelos dois sistemas de cultivo não promoveu proteção significativa da LDL contra a oxidação induzida. Semelhantemente Lotito e Frei (2004a), também não observaram significativa proteção dos lipídeos sanguíneos contra a oxidação *ex vivo* induzida pelo 2,2 azobis amidinopropano (AAPH)

após o consumo agudo de maçãs da cultivar Red Delicious.

Ko et al. (2005), também observaram significativo aumento da atividade antioxidante no soro de dez voluntários, trinta minutos após o consumo de 150 mL de suco de maçã. Semelhantemente, o consumo de 1 litro de suco de maçã causou significativo aumento da atividade antioxidante total sérica medida pelo método 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) em doze voluntários uma hora após o consumo do suco (CHRZCZANOWICZ et al, 2008).

De maneira geral, estes estudos sugerem que o consumo agudo de maçã ou suco de maçã resulta em um rápido aumento da atividade antioxidante sangüínea 0,5 a 3 horas após o consumo. Entretanto, como reportado previamente, até o presente momento, nenhum estudo foi realizado avaliando comparativamente o efeito do consumo agudo de maçã de diferentes cultivares sobre o estado antioxidante e a oxidação lipídica em humanos.

## 2 REFERÊNCIAS

- ABPM. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃ. **Dados estatísticos sobre a cultura da macieira**. Disponível em: <<http://www.abpm.org.br>>. Acesso em: 2 fev. 2009.
- AUCLAIR, S.; SILBERBERG, M.; GUEUX, E.; MORAND, C.; MAZUR, A.; MILENKOVIC, D.; SCALBERT, A. Apple polyphenols and fibers attenuate atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**., v. 56, p. 5558-5563, 2008.
- BITSCH, R.; NETZEL, M.; CARLÉ, E.; STRASS, G.; KESENHEIMER, B.; HERBST, M.; BITSCH, I. Bioavailability of antioxidative compounds from Brettacher apple juice in humans. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**., v. 1, p. 245-249, 2001.
- BONETI, J. I. S.; CESA, J. D.; PETRI, J. L.; BLEICHER, J. Evolução da cultura da macieira. In: EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA S.A. **A cultura da macieira**. Florianópolis, 2002a.
- BONETI, J. I. S.; KATSURAYAMA, Y.; BLEICHER, J. Doenças da macieira. In: EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA S.A. **A cultura da macieira**. Florianópolis, 2002b.
- BOYER, J.; LIU, R.H. Apple phytochemicals and their health benefits. **Nutrition Journal**., v. 3, p. 1-15, 2004.

- BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, v.56, p.317-333, 1998.
- BRIVIBA, K.; STRACKE, B. A.; RÜFER, C. E.; WATZL, B.; WEIBEL, F. P. BUB, A. Effect of Consumption of Organically and Conventionally Produced Apples on Antioxidant Activity and DNA Damage in Humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 7716-7721, 2007.
- BRUN, L.; DIDELOT, F.; PARISI, L. Effects of apple cultivar susceptibility to *Venturia inaequalis* on scab epidemics in apple orchards. **Crop Protection**, v. 27, p. 1009-1019, 2008.
- CAMILO, A. P.; DENARDI, F. Cultivares: descrição e comportamento no Sul do Brasil. In: EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA S.A. **A cultura da macieira**. Florianópolis, 2002.
- CHINNICI, F.; BENDINI, A.; GAIANI, A.; RIPONI, C. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. golden delicious apples as related to their phenolic composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4684-4689, 2004.
- CHITTARRA, M. I. F.; CHITTARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ed. Lavras: UFLA, 2005.
- CHRZCZANOWICZ, J.; GAWRON, A.; ZWOLINSKA, A.; DE GRAFT-JOHNSON, J.; KRAJEWSKI, W.; KROL, M. MARKOWSKI, J.; KOSTKA, T.; NOWAK, D. Simple method for determining human serum 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity – possible application in clinical studies on dietary antioxidants. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 46, p. 342-349, 2008.
- CROFT, K.D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 854, p.435-442, 1998.
- D'ABROSCA, B.; PACIFICO, S.; CEFARELLI, G.; MASTELLONE, C.; FIORENTINO, A. 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar: phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1333-1337, 2007.
- DAUCHET, L.; AMOUYEL, P.; DALLONGEVILLE, J. Fruit and vegetable consumption and risk of stroke: a meta-analysis of cohort studies. **Neurology**, v. 65, p. 1193-1197, 2005.
- DENARDI, F. Cultivares de macieira de baixa e média necessidade de frio e resistência à sarna. In: X Encontro Nacional sobre Fruticultura de Clima Temperado, 2007, Caçador. **Anais...** Caçador: EPAGRI, 2007.
- DENARDI, F.; BERTON, O.; SPENGLER, M. M. Resistência genética

à podridão amarga em maçãs, determinada pela taxa de desenvolvimento da doença em frutos com e sem ferimentos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 494-497, 2003.

DI PIETRO, P.F.; MEDEIROS, N.I.; VIEIRA, N.I.; FAUSTO, M.A.; BELLÓ-KLEIN, A. Breast cancer in southern Brazil: association with past dietary intake. **Nutrición Hospitalaria**, v. 22, p. 565-572, 2007.

DOTAN, Y.; LICHTENBERG, D.; PINCHUK, I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. **Progress in Lipid Research**, v. 43, p. 200-227, 2004.

DROGOUDI, P. D.; MICHAILIDIS, Z.; PANTELIDIS, G. Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 115, p. 149-153, 2008.

EBERHARDT, M. V.; LEE, C. Y.; LIU, R. H. Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**, v. 405, p. 903-904, 2000.

FANG, Y. Z.; YANG, S.; WU, GUOYAO. Free radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition**, v. 18, p. 872-879, 2002.

GARCIA, V.; ARTS, I.C.; STERNE, J.A.; THOMPSON, R.L.; SHAHEEN, S.O. Dietary intake of flavonoids and asthma in adults. **European Respiratory Journal**, v. 26, p. 449-452, 2005.

GERHAUSER, C. Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice, and apple components. **Planta Medica**, v. 74, p. 1608-1624, 2008.

GOMES, R. P. **Fruticultura brasileira**. 13 ed. São Paulo: Nobel, 2007.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, v. 16, p. 33-50, 1996a.

HALLIWELL, B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. **Free Radical Research**, v. 25, p. 57-74, 1996b.

HRAZDINA, G. Response of scab-susceptible (McIntosh) and scab-resistant (Liberty) apple tissues to treatment with yeast extract and *Venturia inaequalis*. **Phytochemistry**, v. 64, p. 485-492, 2003.

IBGE. Banco de dados agregados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA.

**Produção agrícola municipal**. Acesso em: 2 jul. 2009.

IGLESIAS, I.; ECHEVERRÍA, G.; SORIA, Y. Differences in fruit colour development, anthocyanin content, fruit quality and consumer acceptability of eight ‘Gala’ apple strains. **Scientia Horticulturae**, v. 119, p. 32-40, 2008.

JENSEN, G. S.; WU, X.; PATTERSON, K. M.; BARNES, J.; CARTER, S. G.; SCHERWITZ, L.; BEAMAN, R.; ENDRES, J. R.; SCHAUSS, A. G. In Vitro and in Vivo Antioxidant and Anti-inflammatory Capacities of an Antioxidant-Rich Fruit and Berry Juice

- Blend. Results of a Pilot and Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled, Crossover Study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8326-8333, 2008.
- KHANIZADEH, S.; TSAO, R.; REKIKA, D.; YANG, R.; CHARLES, M. T.; RUPASINGHE, H. P. V. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 396-401, 2008.
- KO, S. H.; CHOI, S. W.; YE, S. K.; CHO, B. L.; KIM, H. S.; CHUNG, M. H. Comparison of the antioxidant activities of nine different fruits in human plasma. **Journal of Medicinal Food**, v. 8, p.41-46, 2005.
- KÜHN, B. F.; ANDERSEN, T. T.; PEDERSEN, H. L. Evaluation of 14 old unsprayed apple varieties. **Biological Agriculture & Horticulture**, v. 20, p. 301-310, p. 2003.
- LATA, B. Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 663-671, 2007.
- LATA, B.; TOMALA, K. Apple peel as a contributor to whole fruit quantity of potentially healthful bioactive compounds: cultivar and year implication. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 55, p. 10795-10802, 2007.
- LE MARCHAND, L.; MURPHY, S.P.; HANKIN, J.H.; WILKENS, L.R.; KOLONEL, L.N. Intake of flavonoids and lung cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 92, p. 154-160, 2000.
- LEA, A. G. H. Cidermaking. In: Lea, A.G.H., Piggott, J.R., (Eds.), **Fermented beverage production**. Blackie and Sons, Glasgow, 1995.
- LEE, K. W.; KIM, Y. J.; KIM, D. O.; LEE, H. J.; LEE, C. Y. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 6516-6520, 2003.
- LOTITO, S. B.; FREI B. Relevance of apple polyphenols as antioxidants in human plasma: contrasting in vitro and in vivo effects. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 36, p. 201-211, 2004a.
- LOTITO, S. B.; FREI, B. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? **Free Radical Biology & Medicine**, v. 41, p. 1727-1746, 2006.
- LOTITO, S. B.; FREI, B. The increase in human plasma antioxidant capacity after apple consumption is due to the metabolic effect of fructose on urate, not apple-derived antioxidant flavonoids. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 37, p.251-258, 2004b.

- LUCHI, V. L. Botânica e fisiologia. In: EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA S.A. **A cultura da macieira**. Florianópolis, 2002.
- MAFFEI, F.; TAROZZI, A.; CARBONE, F.; MARCHESI, A.; HRELIA, S.; ANGELONI, C.; FORTI, G. C.; HRELIA, P. Relevance of apple consumption for protection against oxidative damage induced by hydrogen peroxide in human lymphocytes. **The British Journal of Nutrition**, v. 97, p. 921-927, 2007.
- MAYR, U.; MICHALEK, S.; TREUTTER, D.; FEUCHT, W. Phenolic compounds of apple and their relationship to scab resistance. **Journal of Phytopathology**, v. 145, p. 69-75, 2008.
- MCANLIS, G. T.; MCENENY, J.; PEARCE, J.; YOUNG, I. S. Black tea consumption does not protect low density lipoprotein from oxidative modification. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 52, p. 202-206, 1998.
- MCCORD, J. M. The evolution of free radicals and oxidative stress. **The American Journal of Medicine**, v. 108, p. 652-659, 2000.
- McGHIE, T. K.; HUNT, M.; BARNET, L. E. Cultivar and growing region determine the antioxidant polyphenolic concentration and composition of apples grown in New Zealand. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 3065-3070, 2005.
- MCHARDY, W. E. **Apple scab-biology, epidemiology and management**. APS Press: St. Paul, 1996.
- MIRMIRAN, P.; NOORI, N.; ZAVAREH, M. B.; AZIZI, F. Fruit and vegetable consumption and risk factors for cardiovascular disease. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 58, p. 460-468, 2009.
- NEPA-UNICAMP. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação; Universidade Estadual de Campinas. **Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO**, versão 2. São Paulo: NEPA/ Unicamp, 2006.
- PEREIRA, A. J.; BONETI, J. I. S.; BRIGHENTI, E.; DENARDI, F.; CAMILO, A. P. Joaquina: nova cultivar precoce de macieira resistente à sarna. **Revista Agropecuária Catarinense**, v. 16, p. 70-73, 2003.
- PETKOVSEK, M. M.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R. Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh). **Scientia Horticulturae**, v. 114, p. 37-44, 2007.
- PETRI, J. L.; PALLADINI, L. A.; POLA, A. C. Dormência e indução da brotação da macieira. In: EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA S.A. **A cultura da macieira**. Florianópolis, 2002.

- POLAGRUTO, J. A.; GROSS, H. B.; KAMANGAR, F.; KOSUNA, K.; SUN, B.; FUJII, H.; KEEN, C. L.; HACKMAN, R. M. Platelet reactivity in male smokers following the acute consumption of a flavanol-rich grapeseed extract. **Journal of Medicinal Food**, v. 10, p. 725-730, 2007.
- RECORD, I. R.; DREOSTI, I. E.; MCINERNEY, J. K. Changes in plasma antioxidant status following consumption of diets high or low in fruit and vegetables or following dietary supplementation with an antioxidant mixture. **The British Journal of Nutrition**, v. 85, p.459-464, 2001.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2073-2085, 2000.
- SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, v. 21, p. 207-213, 2005.
- SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 25, p. 1058-1071, 1986.
- SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, p. 213-219, 1993.
- SONG, Y.; MANSON, J. E.; BURING, J. E.; SESSO, H. D.; LIU, S. Associations of dietary flavonoids with risk of type 2 diabetes, and markers of insulin resistance and systemic inflammation in women: a prospective study and cross-sectional analysis. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 24, p. 376-384, 2005.
- STOHS, S. J. The role free radicals in toxicity and disease. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 6, p. 205-228, 1996.
- TSAO, R.; YANG, R.; XIE, S.; SOCKOVIE, E.; KHANIZADEH, S. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4989-95, 2005.
- TSAO, R.; YANG, R.; YOUNG, J. C.; ZHU, H. Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 6347-53, 2003.
- USENIK, V.; MIKULIC-PETKOVSEK, M.; SOLAR, A.; STAMPAR, F. Flavonols of leaves in relation to apple scab resistance. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, v 111, p. 137–144, 2004.
- VAN DER SLUIS, A. A.; DEKKER, M.; DE JAGER, A.; JONGEN, W. M. F. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: Effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. **Journal of**



- Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 3606-13, 2001.
- WOJDYLO, A.; OSZMIANSKI, J.; LASKOWSKI, P. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 6520-30, 2008.
- WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 609-14, 2003.
- WU, J.; GAO, H.; ZHAO, L.; LIAO, X.; CHEN, F.; WANG, Z.; HU, X. Chemical compositional characterization of some apple cultivars. **Food Chemistry**, v. 103, p. 88-93, 2007.
- YOUNG, J. F.; NIELSEN, S. E.; HARALDSDOTTIR, J.; DANESHVAR, B.; LAURIDSEN, S. T.; KNUTHSEN, P. CROZIER, A.; SANDSTRÖM, B.; DRAGSTED, L. O. Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, p. 87– 94, 2001.
- ZHANG, C. X.; HO, S. C.; CHEN, Y. M.; FU, J. H.; CHENG, S. Z.; LIN, F. Y. Greater vegetable and fruit intake is associated with a lower risk of breast cancer among Chinese women. **International Journal of Cancer**, v. 125, p. 181-8, 2009.



**CAPÍTULO 2**  
**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE**  
**ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE SEIS CULTIVARES DE MAÇÃS**  
**(*Malus Domestica* Borkh).**

Parte deste trabalho foi apresentado na forma de resumo no XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos e XV Seminário Latino Americano e do Caribe de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belo Horizonte, Outubro de 2008 (ANEXO B).

Artigo completo publicado “Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh)”. *Scientia Horticulturae*, v. 122, p. 421-425, 2009 (ANEXO C).

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE  
ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE SEIS CULTIVARES DE MAÇÃS  
(*Malus Domestica Borkh*)**

**RESUMO**

O objetivo deste estudo foi comparar as características físico-químicas e a atividade antioxidante de seis cultivares de maçã colhidas no sul do Brasil. O conteúdo de matéria seca, sólidos solúveis totais, pH, açúcares totais, acidez titulável, fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante foram avaliados em maçãs das cultivares Imperatriz, Daiane, Fred Hough, Fuji Suprema, Galaxy e Baronesa. Os resultados mostraram grandes diferenças quantitativas na composição das cultivares de maçã. O conteúdo de matéria seca variou entre 15,24 (Galaxy) e 19,55 % (Fuji Suprema), os sólidos solúveis variaram entre 11,8 (Fred Hough) e 14,0 (Daiane) °Brix, os valores pH variaram de 3,90 (Imperatriz) a 4,27 (Fred Hough), o conteúdo de açúcares totais ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) variou de 11,54 (Imperatriz) a 14,78 (Fuji Suprema) e a acidez titulável ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) variou entre 0,20 (Baronesa) e 0,36 (Imperatriz). O conteúdo de fenólicos totais ( $\text{mg GAE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  peso fresco) variou entre 105,4 (Baronesa) e 269,7 mg (Imperatriz). O conteúdo de antocianinas monoméricas totais ( $\text{mg ci-3-gal} \cdot 100\text{g}^{-1}$  PF) variou entre 4,79 (Fred Hough) e 41,96 (Galaxy). A atividade antioxidante mais elevada foi observada na cultivar Imperatriz ( $739 \mu\text{mol TEAC} \cdot 100\text{g}^{-1}$  PF), enquanto a menor atividade foi encontrada na cultivar Fuji Suprema ( $335 \mu\text{mol TEAC} \cdot 100\text{g}^{-1}$  PF). Elevada correlação entre a atividade antioxidante e o conteúdo fenólico total ( $r = 0,957$ ) foi observada. Os resultados sugerem que o genótipo é o principal fator determinante da composição de compostos bioativos em maçãs e fornecem importante informação sobre o potencial comercial das cultivares investigadas.

**Palavras-chave:** maçã, análise físico-química, fenólicos totais, antocianinas, atividade antioxidante.

**PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION AND  
ANTIOXIDANT ACTIVITY *IN VITRO* OF SIX APPLE  
CULTIVARS (*Malus Domestica* Borkh)**

**ABSTRACT**

The objective of this study was to compare the physico-chemical characteristics and antioxidant activity of six apple cultivars grown in southern Brazil. Dry matter, total soluble solids, pH, total sugars, titratable acidity, total phenolics, total monomeric anthocyanin and total antioxidant activity were measured in the apple cultivars Imperatriz, Daiane, Fred Hough, Fuji Suprema, Galaxy and Baronesa. The results showed great quantitative differences in the composition of the apple cultivars. The dry matter varied from 15.24 (Galaxy) to 19.55 % (Fuji Suprema), the soluble solids content was between 11.8 (Fred Hough) and 14.0 (Daiane) °Brix, pH values varied from 3.90 (Imperatriz) to 4.27 (Fred Hough), the total sugar content (g.100g<sup>-1</sup>) ranged from 11.54 (Imperatriz) to 14.78 (Fuji Suprema) and the titratable acidity content (g.100g<sup>-1</sup>) varied from 0.20 (Baronesa) to 0.36 (Imperatriz). The total phenolic content (GAE.100 g<sup>-1</sup> fresh matter) observed in the apple cultivars was between 105.4 (Baronesa) and 269.7 mg (Imperatriz). The values of the total anthocyanin content (mg.100g<sup>-1</sup> FM) ranged from 4.79 (Fred Hough) to 41.96 (Galaxy). The highest total antioxidant activity was observed in Imperatriz (739 µmol TEAC.100g<sup>-1</sup> FM), while the lowest value was found in Fuji Suprema (335 µmol TEAC.100g<sup>-1</sup> FM). There was a strong correlation between antioxidant activity and total phenolic content (r = 0,957). The results suggested that genotype is the main factor that determines the composition of bioactive compounds in apples and this provides important information on how to make the best use of the apple cultivars investigated.

**Keywords:** Apple; Physico-chemical analysis; Total phenolics, Anthocyanins; Antioxidant activity.

## 1 INTRODUÇÃO

A maçã é uma das frutas mais consumidas em todo o mundo. Nos últimos anos, no Brasil, a produção de maçãs comerciais alcançou 1,15 milhões de ton/ano, dos quais a maioria (~70 %) foi utilizada para o consumo direto e o restante (~30 %) foi processado para a produção de suco concentrado (IBGE, 2009). A maçã é um importante constituinte da alimentação humana, é fonte de açúcares, ácidos, e vários compostos biologicamente ativos, tais como os compostos fenólicos, os quais são responsáveis pela elevada atividade antioxidante da fruta (WU et al., 2007). Juntamente com os açúcares e ácidos orgânicos, os compostos fenólicos determinam a qualidade dos frutos da maceira (NOGUEIRA et al., 2006). A concentração de compostos fenólicos, particularmente de antocianinas, depende fortemente da cultivar e do estágio de maturação da maçã e está associada com a qualidade nutricional e sensorial da fruta, tais como sabor e cor (WU et al., 2007). Além disso, estudos recentes têm mostrado que a cultivar de maçã pode substancialmente influenciar a atividade antioxidante e outros componentes químicos, tais como a quantidade de matéria seca, pH e conteúdo total de sólidos solúveis, açúcares, ácidos, fenólicos e antocianinas (WOLFE et al., 2003; PAGANINI et al., 2004; NOGUEIRA et al., 2006; PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008). Estes parâmetros podem fornecer informações importantes aos consumidores para o reconhecimento de uma cultivar de maçã com maior valor nutricional (DROGOUDI et al., 2008).

Vários estudos sobre a composição química de cultivares de maçã colhidas no Brasil foram publicados (PAGANINI et al., 2004; WOSIACKI et al., 2004; NOGUEIRA et al., 2006). Entretanto, somente um estudo avaliou a atividade antioxidante, o conteúdo de fenólicos e antocianinas totais de cultivares de maçãs comerciais colhidas no Brasil em condições geográficas similares (VIEIRA et al., 2009). Considerando que o Brasil é o terceiro maior produtor de maçãs da América do Sul, responsável por 1,5 % da produção mundial e o estado de Santa Catarina é o maior produtor deste país, com 51 % do total da produção, pesquisas detalhadas sobre estes frutos são necessárias. Neste sentido, este estudo objetivou analisar e comparar as características físico-químicas e a atividade antioxidante de seis cultivares de maçãs colhidas no sul do Brasil.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Amostras e reagentes**

Amostras de seis cultivares de maçã, Imperatriz, Daiane, Fred Hough, Fuji Suprema, Galaxy e Baronesa foram obtidas da Estação Experimental da Epagri de Caçador (latitude 26°46'32", longitude 51°0'50", e altitude 960 m), no estágio de maturação comercial de cada cultivar, durante a safra de 2008.

Para as análises da caracterização química, atividade antioxidante e conteúdo fenólico foram obtidas aleatoriamente amostras de 15 frutas de cada cultivar, colhidas no estágio de maturação para consumo, na fase de meia estação de colheita, por pessoal treinado. Imediatamente após a colheita as amostras foram transportadas ao Laboratório de Química de Alimentos, onde as mesmas passaram por um processo de seleção que englobou a retirada de maçãs com pontos pretos ou danos mecânicos, provenientes de batidas. Na sequência foram lavadas, higienizadas e secas. Em seguida, cinco frutas de cada cultivar foram selecionadas aleatoriamente para realização da caracterização química e cinco frutas foram congeladas a -20 °C até o preparo dos extratos para as análises da atividade antioxidante.

Todos os reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico (PA).

### **2.2 Caracterização físico-química**

Após a seleção aleatória as frutas inteiras (polpa e casca, sem sementes) foram trituradas em processador de alimentos (modelo Ika A49, Brasil) e analisadas em triplicata quanto ao teor de matéria seca, sólidos solúveis totais, pH, acidez total titulável e açúcares totais.

Os parâmetros foram medidos de acordo com os métodos oficiais (AOAC, 2005): a matéria seca foi determinada através de secagem em estufa a 70 °C até obtenção de peso constante (método 934.06); os sólidos solúveis totais, expresso em °Brix, foram medidos a 20 °C em refratômetro marca Abbe (Japão) (método 932.12); o pH foi determinado a 20 °C em leitura no pHmetro digital (modelo Digimed® DM-20, Brasil) calibrado com solução tampão pH 4,0 e 7,0 (método 981.12); a acidez titulável foi determinada titulando-se as amostras com 0,1M de hidróxido de sódio e calculado como g de ácido málico 100g<sup>-1</sup> de peso fresco (método 942.15); os açúcares totais foram determinados de acordo com o Método de Fehling (método 974.06). A relação

açúcar/ácido também foi determinada. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

### **2.3 Procedimento de extração**

Para a obtenção dos extratos, cinco frutas congeladas de cada cultivar foram inicialmente cortadas ao meio e o endocarpo (centro) foi retirado com um descaroçador. Em seguida as frutas foram trituradas em processador de alimentos (modelo Ika A49, Brasil). Dez gramas (10 g) de fruta inteira triturada, foi extraída a temperatura ambiente usando ultra-som USC-1400 (Unique, São Paulo, Brasil). A extração foi realizada com 200 mL de solução de acetona 80 % por 15 minutos (min). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1000 x g por 10 min a 5 °C (Fanen 280R, São Paulo, Brasil) e o sobrenadante imediatamente utilizado na determinação do conteúdo de fenólicos totais e na determinação da atividade antioxidante. Todos os extratos foram preparados em triplicata.

### **2.4 Conteúdo de fenólicos totais**

O conteúdo de fenólicos totais dos extratos foi determinado usando um método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu modificado (BUDINI et al., 1980). Brevemente, 2,5 mL de água deionizada e 100 µL de uma diluição conhecida do extrato acetônico foram adicionados a um balaão volumétrico de 10 mL. Folin-Ciocalteu reagente (0,5 mL) foi adicionado à solução e deixado reagir por 5 min. Então, 1,5 mL de solução de carbonato de sódio 20 % foram adicionados e o volume foi completado com água deionizada. A absorbância foi determinada a 765 nanômetros (nm) e os resultados foram expressos em miligramas (mg) de equivalentes a ácido gálico (EAG) . 100g<sup>-1</sup> de peso fresco (PF).

### **2.5 Conteúdo de antocianinas monoméricas totais**

O conteúdo de antocianinas monoméricas totais foi determinado somente na casca das maçãs pelo método da diferença de pH (GIUSTI; WROSTALD, 2001), em que se dissolve em dois sistemas tampão: cloreto de potássio pH 1,0 (0,025M) e acetato de sódio pH 4,5 (0,4M). A extração das amostras de cascas de maçã para determinação das antocianinas monoméricas totais foi realizada seguindo os mesmos procedimentos de obtenção do extrato para a análise do conteúdo de fenólicos totais, com a diferença que o solvente extrator usado foi o



metanol contendo 0,1% de ácido clorídrico (HCl). Extratos da casca diluídos (1:10) (para se obter densidade óptica na faixa de 0,100-1,200, a 510 nm) foram adicionados às duas soluções tampão e efetivadas as medidas a 510 nm e a 700 nm usando um espectrofotômetro Hewlett-Packard modelo HP 8452A (Cheadle Heath, Stockport, Cheshire, UK). O conteúdo de antocianinas monoméricas totais (mg cianidina-3-galactosídeo . 100g<sup>-1</sup> de peso fresco) foi calculado a partir da equação: Antocianinas monoméricas totais =  $A \times PM \times 1000 / (\epsilon \times C)$  onde  $A$  é a absorbância =  $(A_{515} - A_{700})_{pH\ 1.0} - (A_{515} - A_{700})_{pH\ 4.5}$ ;  $PM$  é o Peso molecular da cianidina 3-galactosídeo = 445,2;  $\epsilon$  é o coeficiente de absorvidade molar da cianidina 3-galactosídeo = 34300 e  $C$  é a concentração do tampão. Os resultados foram expressos como mg de equivalentes a cianidina 3-galactosídeo . 100g<sup>-1</sup> de peso fresco (PF).

## 2.6 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos de maçã foi determinada pelo método ABTS (RE et al., 1999). O radical ABTS<sup>•+</sup> foi formado por uma reação química com persulfato de potássio 2,45 mM. Uma vez formado o radical ABTS<sup>•+</sup> foi diluído em solução de etanol (1:50) até obter-se uma medida de absorbância de 0,70 ( $\pm$  0,02) a um comprimento de onda de 734 nm. Após a adição de 1 mL da solução do radical ABTS<sup>•+</sup> a 10  $\mu$ L de amostra a absorbância foi lida após 7 min de reação. Curvas com soluções padrões de Trolox (antioxidante sintético similar a vitamina E) foram construídas. Os resultados foram expressos em termos de atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC,  $\mu$ Mol de equivalentes trolox . 100g<sup>-1</sup> PF).

## 2.7 Análises estatísticas

Todas as análises foram efetuadas em triplicata. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio-padrão. As diferenças entre as médias foram avaliadas através da análise de variância (ANOVA) univariada seguida de teste de Tukey. Coeficiente de correlação de Pearson também foi aplicado. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa “STATISTICA 7”, admitindo nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Análises físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas das cultivares de maçãs investigadas estão apresentados na Tabela 1. Diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) foram observadas entre as cultivares para matéria seca, sólidos solúveis totais, açúcares totais e acidez total titulável. A matéria seca variou entre 15,24 % (Galaxy) e 19,55 % (Fuji Suprema). Semelhantes resultados têm sido previamente publicados para maçãs de diferentes cultivares colhidas na Polônia, com conteúdo de matéria seca variando entre 13,6 e 19,3 % (LATA, 2007). O teor de sólidos solúveis totais oscilou entre 11,8 (Fred Hough) e 14,0 (Daiane) °Brix. Drogoudi et al. (2008) reportaram valores de sólidos solúveis totais entre 12,1 e 13,3 °Brix em cultivares de maçã, os quais estão de acordo com os resultados do presente estudo. Os valores de pH variaram entre 3,90 (Imperatriz) e 4,27 (Fred Hough), os quais foram consistentes com os valores previamente reportados em cultivares de maçã colhidas na China (3,59 – 4,16 pH) (WU et al., 2007). O conteúdo de açúcares totais variou entre 11,54 (Imperatriz) e 14,78 (Fuji Suprema) g.100g<sup>-1</sup>. Petkovsek et al. (2007) encontraram conteúdo de açúcares totais oscilando entre 12,8 e 19,1 g.100g<sup>-1</sup> em nove cultivares de maçãs colhidas na Eslovênia. Além disso, o conteúdo de açúcares totais deste estudo está de acordo com os resultados obtidos em um estudo prévio com seis cultivares de maçãs colhidas no município de Caçador/SC, o qual reportou valores de açúcares totais entre 11,8 (Imperatriz) e 14,8 (Sansa) (PAGANINI et al., 2004).

A acidez titulável, expressa em ácido málico, apresentou valores que variaram entre 0,20 (Baronesa) e 0,36 g.100g<sup>-1</sup> (Imperatriz). Nogueira et al. (2006) reportaram valores de acidez titulável entre 0,28 (Sansa) e 0,38 (Imperatriz) em sete cultivares de maçãs colhidas no município de Caçador/SC.

A relação açúcar/acidez é responsável pelo sabor das maçãs (PETKOVSEK et al., 2007; WU et al., 2007). Cultivares de maçã com relação açúcar/acidez menor do que 20, são ácidas e apropriadas para o processamento e produção de cidra, enquanto que cultivares com relação açúcar/ acidez maiores do que 20 são doces, e indicadas para o consumo in natura (LEA, 1995). Como pode ser observado na Tabela 1, todas as cultivares apresentaram relação açúcar/acidez acima de 20, sendo classificadas como cultivares doces. Resultados semelhantes foram publicados para maçãs de diferentes cultivares colhidas no Brasil

(relação entre 31,5 e 58,0) (Paganini et al., 2004; Nogueira et al., 2006).

**Tabela 1** Matéria seca, sólidos solúveis totais (SST), pH, açúcares totais, acidez titulável e relação açúcar/ácido de seis cultivares de maçãs.

Cultivar	Matéria Seca (%)	SST (°Brix)	pH	Açúcares totais (g.100g <sup>-1</sup> )	Acidez titulável (g.100g <sup>-1</sup> )	Açúcar/Ácido
Imperatriz	16,77 ±0,01 <sup>c</sup>	13,7 <sup>b</sup>	3,90±0,00 <sup>b</sup>	11,54±0,32 <sup>d</sup>	0,36±0,01 <sup>a</sup>	32,05
Daiane	17,97 ±0,07 <sup>b</sup>	14,0 <sup>a</sup>	3,93±0,02 <sup>b</sup>	13,58±0,04 <sup>b</sup>	0,31±0,01 <sup>b</sup>	43,80
Fred Hough	16,44 ±0,04 <sup>c</sup>	11,8 <sup>d</sup>	4,27±0,04 <sup>a</sup>	12,43±0,22 <sup>cd</sup>	0,23±0,01 <sup>d</sup>	54,04
Fuji Suprema	19,55 ±0,20 <sup>a</sup>	13,7 <sup>b</sup>	3,99±0,01 <sup>b</sup>	14,78±0,02 <sup>a</sup>	0,35±0,01 <sup>a</sup>	42,22
Galaxy	15,24 ±0,01 <sup>e</sup>	12,7 <sup>c</sup>	4,25±0,04 <sup>a</sup>	12,14±0,35 <sup>d</sup>	0,28±0,01 <sup>c</sup>	43,35
Baronesa	15,74 ±0,02 <sup>d</sup>	13,8 <sup>ab</sup>	4,00±0,00 <sup>b</sup>	13,36±0,29 <sup>bc</sup>	0,20±0,01 <sup>d</sup>	66,80

Resultados são expressos como média ± Desvio Padrão de três repetições em triplicata.

Medidas seguidas pelas mesmas letras, na vertical, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Amplas variações nas propriedades físico-químicas têm sido reportadas entre genótipos de diferentes cultivares de várias espécies de frutas, tais como maçã (PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008), amora (ERCISLI; ORHAN, 2008; ÖZGEN et al., 2009), uva (ORAK, 2007), ameixa (RUPASINGHE et al., 2006) e morango (SCALZO et al., 2005). Os resultados das características químicas das cultivares de maçã deste estudo demonstram que as cultivares são diferentes em termos de conteúdo de matéria seca, sólidos solúveis totais, açúcares totais, acidez titulável e valores de pH. Além disso, esses parâmetros variam grandemente entre os estudos citados e entre as regiões consideradas pelos pesquisadores. Isto pode ser devido a natureza específica dos diferentes locais de plantio e das diferentes práticas agrícolas aplicadas. Sabe-se também que o genótipo da planta fortemente afeta a composição química de maçãs (PETKOVSEK et al., 2007; WU et al., 2007). Deste modo, as diferenças entre as cultivares em termos de características químicas são atribuídas à origem genética do fruto uma vez que as comparações foram realizadas entre cultivares

plantadas nas mesmas condições geográficas, com a utilização das mesmas práticas agrícolas e durante a mesma safra.

### **3.2 Conteúdo de fenólicos e antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante**

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados do conteúdo de fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante dos extratos das seis cultivares de maçãs investigadas. Grande variação em termos de conteúdo fenólico total foi observada entre as cultivares (105,4 – 269,7 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>) e as diferenças foram estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ). O maior conteúdo de fenólicos totais foi observado na cultivar Imperatriz, seguida pela cultivar Daiane, enquanto que o menor conteúdo foi encontrado nas frutas da cultivar Baronesa. Considerando que as comparações foram realizadas somente entre cultivares plantadas no mesmo local, com a utilização de práticas agrícolas semelhantes, e na mesma safra, as variações observadas demonstram que a variabilidade genética é responsável pelas diferenças na biosíntese de produtos do metabolismo secundário nestas cultivares selecionadas. Além disso, a comparação dos resultados deste estudo com os obtidos em outras pesquisas sugerem resultados semelhantes, embora diferenças nas unidades de expressão dos resultados, nos solventes extratores, padrões e técnicas utilizadas dificultem uma comparação direta. Semelhantes conteúdos de fenólicos totais (167 – 234 mg EAG . 100g<sup>-1</sup>) na fruta inteira foram previamente reportados em maçãs de três cultivares colhidas no sul do Brasil (VIEIRA et al., 2009).

O conteúdo de antocianinas constitui um importante parâmetro de qualidade de maçãs, devido a importância destes compostos em relação à cor dos frutos e de seus respectivos produtos (IGLESIAS et al., 2008). As antocianinas na casca das maçãs variam grandemente de acordo com a cultivar e as condições climáticas tais como luz e temperatura (IGLESIAS et al., 2008). Neste estudo, foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as cultivares quanto ao conteúdo de antocianinas (4,79 - 41,96 mg ci-3-gal . 100g<sup>-1</sup>;  $p < 0,05$ ). O maior conteúdo de antocianinas foi observado na cultivar Galaxy, seguida pela Imperatriz, enquanto que o menor conteúdo foi observado na cultivar Fred Hough (Tabela 2). A cor vermelha da casca da maçã é devida a presença de cianidina 3-galactosídeo, a antocianina presente em maior quantidade em cultivares de maçãs vermelhas ou parcialmente vermelhas (TSAO et al., 2005; IGLESIAS et al., 2008). Em contraste ao

observado neste estudo, Iglesias et al. (2008) reportaram conteúdo significativamente menor de antocianina monomérica total na casca da cultivar Galaxy colhida na Espanha ( $< 25$  mg cianidina 3-gal  $100\text{g}^{-1}$  peso fresco) e consideraram esta cultivar a de coloração vermelha menos intensa comparada a outras sete cultivares analisadas. Wolfe et al. (2003) também reportaram valores de antocianinas monoméricas totais ( $2,1 - 26,8$  mg cianidina 3-glu  $100\text{g}^{-1}$  peso fresco), em três cultivares de maçãs colhidas nos Estados Unidos, menores do que os observados neste estudo. As diferenças observadas entre os estudos podem ser atribuídas às diferentes cultivares de maçãs investigadas, diferentes métodos de extração e padrões utilizados. No caso da cultivar Galaxy as diferenças observadas podem ser atribuídas também ao diferente local de produção (IGLESIAS et al., 2008).

Assim como para o conteúdo de fenólicos e antocianinas totais, as diferenças na atividade antioxidante ( $335 - 739$   $\mu\text{mol TEAC } 100\text{g}^{-1}$ ) entre as cultivares investigadas foram estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ). A maior atividade antioxidante foi observada na cultivar Imperatriz, seguida pela cultivar Daiane, enquanto que a Fuji Suprema, Galaxy e Baronesa apresentaram a menor atividade antioxidante (Tabela 2). A atividade antioxidante observada neste estudo foi maior do que a encontrada em cultivares de maçãs analisadas por Scalzo et al. (2005), que também usaram o método ABTS e obtiveram valores de  $258$   $\mu\text{mol TEAC} \cdot 100\text{g}^{-1}$  PF. Entretanto, os resultados deste estudo foram consistentes com diversos estudos prévios que reportaram que maçãs possuem elevada atividade antioxidante e que esta varia fortemente entre as cultivares (PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; KHANIZADEH et al., 2008).

**Tabela 2** Fenólicos totais (FT), antocianinas monoméricas totais (AMT) e atividade antioxidante *in vitro* (AA) de seis cultivares de maçãs.

Cultivar	FT (mg EAG 100g <sup>-1</sup> )	AMT (mg ci-3-gal 100g <sup>-1</sup> )	AA (μmol TEAC 100g <sup>-1</sup> )
Imperatriz	269,76±4,16 <sup>a</sup>	27,08±0,78 <sup>b</sup>	739,85±9,30 <sup>a</sup>
Daiane	188,95±6,45 <sup>b</sup>	21,02±0,79 <sup>c</sup>	460,42±11,97 <sup>b</sup>
Fred	135,24±3,95 <sup>c</sup>	4,79±0,64 <sup>e</sup>	427,83±15,03 <sup>c</sup>
Hough			
Fuji	134,37±0,70 <sup>c</sup>	17,97±0,05 <sup>d</sup>	335,15±0,20 <sup>d</sup>
Suprema			
Galaxy	132,93±0,70 <sup>c</sup>	41,96±0,29 <sup>a</sup>	341,07±1,03 <sup>d</sup>
Baronesa	105,46±8,28 <sup>d</sup>	5,52±0,44 <sup>e</sup>	344,22±4,94 <sup>d</sup>

Resultados são expressos como média ± Desvio Padrão de três repetições em triplicata.

Medidas seguidas pelas mesmas letras, na vertical, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

A análise de correlação de Pearson demonstrou que a atividade antioxidante foi positivamente relacionada ao conteúdo de fenólicos totais ( $r = 0,957$ ,  $p < 0,01$ ) embora nenhuma correlação tenha sido observada entre a concentração de antocianinas e a atividade antioxidante ( $r = 0,162$ ,  $p > 0,05$ ) e entre a concentração de antocianinas e fenólicos totais ( $r = 0,341$ ,  $p > 0,05$ ). Drogoudi et al. (2008) também reportaram uma positiva correlação entre a atividade antioxidante *in vitro* e o conteúdo de fenólicos totais na polpa e na casca ( $r = 0,914$  e  $0,977$ , respectivamente). Wolfe et al. (2003) semelhantemente aos nossos resultados, não observaram qualquer relação entre a atividade antioxidante e o conteúdo de antocianinas monoméricas totais na casca de quatro cultivares de maçãs. Estes resultados sugerem que outros compostos fenólicos contribuem significativamente com a atividade antioxidante da fruta.

#### 4 CONCLUSÕES

As características físico-químicas, conteúdo de fenólicos, antocianinas monoméricas totais e a atividade antioxidante *in vitro* diferiram entre as cultivares investigadas, indicando que o genótipo é o principal fator determinante da composição de compostos bioativos em maçãs. Todas as cultivares investigadas foram classificadas como adequadas para consumo *in natura*, contendo baixo conteúdo de ácidos,

elevada relação açúcar/acidez e alto conteúdo de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante. Além disso, considerando a qualidade exigida para a produção de suco de maçã, pode ser adequado a utilização de diferentes cultivares de maçã para produzir suco de maçã misto. Adicionalmente, a análise de correlação indica que o conteúdo de fenólicos totais contribui significativamente para a atividade antioxidante de maçãs.

## 5 REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of the AOAC International**, 18th ed. Maryland: AOAC, 2005.
- BUDINI, R.; TONELLI, D.; GIROTTI, S. Analysis of total phenols using the prussian blue method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, p. 1236-38, 1980.
- DROGOUDI, P. D.; MICHAILIDIS, Z.; PANTELIDIS, G. Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 115, p. 149-153, 2008.
- ERCISLI, S.; ORHAN, E. Some physico-chemical characteristics of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes from Northeast Anatolia region of Turkey. **Scientia Horticulturae**, v. 116, p. 41-46, 2008.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Unit F1.2.1-13. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-Visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R.E. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: John Wiley, 2001.
- IBGE. Banco de dados agregados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA. **Produção agrícola municipal**. Acesso em: 2 jul. 2009.
- IGLESIAS, I.; ECHEVERRÍA, G.; SORIA, Y. Differences in fruit colour development, anthocyanin content, fruit quality and consumer acceptability of eight ‘Gala’ apple strains. **Scientia Horticulturae**, v. 119, p. 32-40, 2008.
- KHANIZADEH, S.; TSAO, R.; REKIKI, D.; YANG, R.; CHARLES, M. T.; RUPASINGHE, H. P. V. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 396-401, 2008.
- LATA, B. Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 663-671, 2007.
- LEA, A. G. H. Cidermaking. In: Lea, A.G.H., Piggott, J.R., (Eds.),

**Fermented beverage production.** Blackie and Sons, Glasgow, 1995.

NOGUEIRA, A.; BISCAIA, I.; WIECHETECK, F. V. B.; DENARDI, F.; WOSIACKI, G. Avaliação físico-química e tecnológica do suco de sete cultivares de macieira. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, p. 89-98, 2006.

ORAK, H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**, v. 111, p. 235-24, 2007.

ÖZGEN, M.; SERÇE, S.; KAYA, C. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 119, p. 275-279, 2009.

PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A.; DENARDI, F.; WOSIACKI, G. Análise da aptidão industrial de seis cultivares de maçãs, considerando suas avaliações físico-químicas (dados da safra 2001/2002). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 1336-1343, 2004.

PETKOVSEK, M. M.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R. Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh). **Scientia Horticulturae**, v. 114, p. 37-44, 2007.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

RUPASINGHE, H. P. V.; JAYASANKAR, S.; LAY, W. Variation in total phenolics and antioxidant capacity among European plum genotypes. **Scientia Horticulturae**, v. 108, p. 243-246, 2006.

SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, v. 21, p. 207-13, 2005.

TSAO, R.; YANG, R.; XIE, S.; SOCKOVIE, E.; KHANIZADEH, S. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4989-95, 2005.

VIEIRA, F. G. K.; BORGES, G. S. C.; COPETTI, C.; GONZAGA, L. V.; NUNES, E. C.; FETT, R. Activity and contents of polyphenolic antioxidants in the whole fruit, flesh and peel of three apple cultivars. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 59, p. 101-106, 2009.

WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 609-14, 2003.

WOSIACKI, G.; PHOLMAN, B. C.; NOGUEIRA, A. Características de qualidade de cultivares de maçã: avaliação físico-química e sensorial de



quinze cultivares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 347-352, 2004.

WU, J.; GAO, H.; ZHAO, L.; LIAO, X.; CHEN, F.; WANG, Z.; HU, X. Chemical compositional characterization of some apple cultivars. **Food Chemistry**, v. 103, p. 88-93, 2007.



**CAPÍTULO 3**  
**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE**  
**ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE ONZE CULTIVARES DE**  
**MAÇÃS (*Malus Domestica* Borkh).**

Resultados preliminares que antecederam este trabalho foram publicados “Activity and contents of polyphenolic antioxidants in the whole fruit, flesh and peel of three apple cultivars”. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, v 59, p. 101-106, 2009 (ANEXO D).

Parte deste trabalho foi submetida na forma de artigo para a revista *LWT - Food Science and Technology* (ANEXO E).

Parte deste trabalho, referente à caracterização físico-química e propriedades antioxidantes na fruta inteira, será submetida na forma de artigo para revista *Journal of Food Composition and Analysis*.

## CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE ONZE CULTIVARES DE MAÇÃS (*Malus Domestica* Borkh)

### RESUMO

Este estudo objetivou analisar as características físico-químicas de onze cultivares de maçã colhidas no sul do Brasil no ano de 2008 e comparar o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante *in vitro* na polpa, fruta inteira e casca. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre as cultivares, em todos os parâmetros de composição química analisados. O conteúdo de matéria seca variou entre 14,01 % (Golden Delicious) e 20,95 % (Catarina), os sólidos solúveis entre 12,2 (Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub>) e 15,2 (Catarina) °Brix, os valores pH variaram de 2,93 (COOP-24) a 3,56 (Fuji Suprema), o conteúdo de açúcares totais (g.100g<sup>-1</sup>) variou de 9,90 (Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub>) a 12,64 (Catarina) e a acidez titulável (g.100g<sup>-1</sup>) entre 0,27 (Fuji Precoce) e 0,70 (COOP-24). As concentrações de fenólicos totais, flavanóis totais, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP também diferiram significativamente entre as cultivares e foram maiores na casca, seguidas da fruta inteira e polpa. O conteúdo de fenólicos totais (mg EAG .100g<sup>-1</sup> peso fresco) variou entre 128,3 (Golden Delicious) e 212,0 (Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub>) na polpa, 150,1 (Golden Delicious) e 251,5 (Catarina) na fruta inteira e 304,6 (Golden Delicious) e 712,6 (Catarina) na casca. O conteúdo de flavanóis totais (mg catequina .100 g<sup>-1</sup>) variou entre 7,8 (Epagri-SJ11) e 28,2 (Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub>) na polpa, 10,7 (Epagri-SJ11) e 50,3 (Catarina) na fruta inteira e 32,4 (Epagri-SJ11) e 147,7 (Catarina) na casca. A cultivar COOP-24 apresentou o maior conteúdo de antocianinas na casca (116,86 mg cianidina 3-galactosídeo .100 g<sup>-1</sup>). A polpa, fruta inteira e casca das cultivares Catarina, Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> e Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub> apresentaram a maior atividade antioxidante pelos três métodos, enquanto que a cultivar Golden Delicious apresentou aos menores valores em todas as partes da fruta. Houve uma relação positiva entre fenólicos totais e a atividade antioxidante na polpa, fruta inteira e casca ( $R^2 = 0,717$ ; 0,781 e 0,716, respectivamente); entre flavanóis totais e atividade antioxidante na fruta inteira e casca ( $R^2 = 0,415$  e 0,600, respectivamente); e entre fenólicos totais e flavanóis totais na fruta inteira e na casca ( $R^2 = 0,600$  e 0,514, respectivamente). Os resultados indicam que a composição química da fruta depende consideravelmente

da cultivar e em especial o conteúdo de compostos fenólicos varia conforme a parte da fruta analisada.

**Palavras-chave:** maçã, análise físico-química, fenólicos totais, flavanóis, antocianinas, atividade antioxidante.

## PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY *IN VITRO* OF ELEVEN APPLE CULTIVARS (*Malus Domestica* Borkh)

### ABSTRACT

The objectives of this study were to analyze the physico-chemical characteristics of eleven apple cultivars harvested in southern Brazil, in the 2008 season, and to compare the their phenolic compounds content and antioxidant activity in the flesh, whole fruit and peel. The results showed great quantitative differences in the composition of the apple cultivars. The dry matter varied from 14.01 (Golden Delicious) to 20.95 % (Catarina), the soluble solids content was between 12.2 (Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub>) and 15.2 (Catarina) °Brix, pH values varied from 2.93 (COOP-24) to 3.56 (Fuji Suprema), the total sugar content (g.100g<sup>-1</sup>) ranged from 9.90 (Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub>) to 12.64 (Catarina) and the titratable acidity content (g.100g<sup>-1</sup>) varied from 0.27 (Fuji Precoce) to 0.70 (COOP-24). Within each cultivar, the total phenolic (TP), total flavanol (TF) and total monomeric anthocyanin (TMA) contents and antioxidant activity measured by ABTS, DPPH and FRAP assay were highest in the peels, followed by the whole fruit and the flesh. TP content (mg GAE .100 g<sup>-1</sup> fresh matter) ranged from 128.3 (Golden Delicious) to 212.0 (Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub>) in the flesh, 150.1 (Golden Delicious) to 251.5 (Catarina) in the whole fruit and 304.6 (Golden Delicious) to 712.6 (Catarina) in the peel. TF content (mg CAE .100 g<sup>-1</sup> fm) varied from 7.8 (Epagri-SJ11) to 28.2 (Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub>); 10.7 (Epagri-SJ11) to 50.3 (Catarina); and from 32.4 (Epagri-SJ11) to 147.7 (Catarina) in the flesh, whole fruit and peel, respectively. COOP-24 peel had the highest TMA content (116.8 mg cy-3-gal .100 g<sup>-1</sup>). The flesh, whole fruit and peel of the Catarina, Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> and Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub> had the highest AOA while the Golden Delicious had the lowest AOA in all fruit parts. There was a positive relationship between TP and AOA in both the flesh, whole fruit and peel ( $R^2 = 0.717$ ; 0.781 and 0.716, respectively), between TF content and AOA in the whole fruit and peel ( $R^2 = 0.415$  e 0.600, respectively); and between TP and TF contents in the whole fruit and peel ( $R^2 = 0.600$  and 0.514, respectively) was also observed. The results indicate that the chemical composition of the fruit is strongly dependent on the apple cultivar, and specially the phenolic compounds content varies considerably depending of the fruit part analyzed.

**Keywords:** Apple, physico-chemical analysis, total phenolics,

Anthocyanins, antioxidant activity.

## 1 INTRODUÇÃO

O consumo regular de maçã (*Malus Domestica* Borkh) tem sido associado com a redução do risco de diversas doenças crônicas não transmissíveis, tais como câncer (DI PIETRO et al., 2007) e doenças cardiovasculares (AUCLAIR et al., 2008). Esta associação é frequentemente atribuída aos polifenóis antioxidantes presentes em maçãs, os quais podem proteger o corpo humano contra o estresse oxidativo através da neutralização das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (KO et al., 2005). A maçã também contém ácido ascórbico, mas este é responsável por menos de 4 % da atividade antioxidante *in vitro*, indicando que outros compostos, tais como os fenólicos, são os principais contribuintes (DROGOUDI et al., 2008).

Muitos estudos têm demonstrado que as características físico-químicas, bem como a concentração de compostos fenólicos, dentre eles os flavanóis e antocianinas, em maçãs diferem dependendo da cultivar, da parte da fruta, do estágio de maturação e das condições ambientais (WOLFE et al., 2003; D'ABROSCA et al., 2007; WU et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008). De acordo com muitos pesquisadores, o conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante é particularmente maior na casca da maçã comparada à fruta inteira e à polpa (WOLFE et al., 2003; D'ABROSCA et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008). Estes fatos sugerem que a casca da maçã pode conter maior quantidade de compostos bioativos do que a polpa.

Vários estudos de caracterização de diferentes partes da fruta em cultivares colhidas nos Estados Unidos (WOLFE et al., 2003), Itália (D'ABROSCA et al., 2007), Polônia (LATA; TOMALA, 2007) e Nova Zelândia (McGHIE et al., 2005) foram conduzidos com base no conteúdo de compostos fenólicos. Entretanto, pouca atenção tem sido dada a novas cultivares de maçãs colhidas no Brasil, o qual constitui o terceiro maior produtor da América do Sul, participando com aproximadamente 1,5 % da produção mundial. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi analisar as características físico-químicas de onze cultivares de maçã colhidas no Sul do Brasil e comparar o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante na polpa, fruta inteira e casca.



## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Amostras e reagentes

Onze cultivares de maçã (15 frutas de cada): Fuji Standard, Fuji Precoce, Fuji Suprema, Fuji Kiku 8, Catarina, Golden Delicious, Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub>, COOP-24, Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub>, Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub> e Epagri-SJ11 foram obtidas da Estação Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), localizada em São Joaquim, SC, Brasil (latitude 28°17'25", longitude 49°56'56" e altitude 1360 m). Todas as maçãs foram colhidas por pessoal treinado, no estágio de maturação para consumo, na fase de meia estação de colheita, na safra de 2008.

Imediatamente após a colheita as amostras foram transportadas ao Laboratório de Química de Alimentos. Após a amostragem de forma aleatória, as mesmas passaram por um processo de seleção que englobou a retirada de maçãs com pontos pretos ou danos mecânicos, provenientes de batidas e, na sequência foram lavadas, higienizadas e secas. Em seguida, cinco frutas de cada cultivar foram selecionadas aleatoriamente para realização da caracterização química e cinco frutas foram congeladas a -20 °C até o preparo dos extratos para as análises da atividade antioxidante.

Folin-Ciocalteu reagente, (+)-catequina, 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS), 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (Trolox), 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), 2,4,6-tri (2-pyridil)-s-triazina (TPTZ) e p-deimetilaminocinamaldeído (DMACA) foram obtidos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Ácido gálico, ácido cítrico, persulfato de potássio, carbonato de sódio e acetato de sódio foram obtidos da Vetec (Rio de Janeiro, Brazil). Todos os outros reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico (PA).

### 2.2 Caracterização físico-química

Inicialmente as frutas inteiras (polpa e casca, sem sementes) foram trituradas em processador de alimentos (modelo Ika A49, Brasil) e posteriormente analisadas em triplicata quanto ao teor de matéria seca, sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável e açúcares totais de acordo com os métodos recomendados pela *Association of Official Analytical Chemists* 934.06, 932.12, 981.12, 942.15 e 974.06, respectivamente

(AOAC, 2005). A relação açúcar/ácido também foi determinada. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

### **2.3 Preparo dos extratos**

Para a obtenção dos extratos, as cinco frutas congeladas de cada cultivar foram inicialmente cortadas ao meio e o endocarpo (centro) foi retirado com um descaroçador. Em seguida, uma metade de cada uma das frutas (epicarpo e mesocarpo juntos) foi triturada em processador de alimentos (modelo Ika A49, Brasil). A outra metade de cada uma das frutas foi descascada com um descascador de legumes, para a separação da polpa (mesocarpo) e da casca (epicarpo) e em seguida cada uma destas partes foi triturada separadamente. Neste trabalho a polpa (mesocarpo) constituiu a porção comestível das frutas sem a casca (epicarpo). A fruta inteira constituiu a porção comestível da fruta com o conteúdo de polpa e casca mantidas na mesma proporção que em uma maçã inteira. As cascas foram as partes da maçã removidas através de um descascador de legumes e como uma fina camada de polpa permaneceu aderida à casca, a casca pode ser considerada como a zona epidérmica das maçãs.

Dez gramas (10 g) de fruta inteira, de polpa ou de casca trituradas, foram extraídas a temperatura ambiente usando ultra-som USC-1400 (Unique, São Paulo, Brasil). A extração foi realizada com 200 mL de solução de acetona 80% por 15 minutos (min). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1000 x g por 10 min a 5°C (Fanen 280R, São Paulo, Brasil) e o sobrenadante imediatamente utilizado na determinação do conteúdo de fenólicos e flavanóis totais e na determinação da atividade antioxidante. Todos os extratos foram preparados em triplicata.

### **2.4 Conteúdo de fenólicos e flavanóis totais**

O conteúdo de fenólicos totais dos extratos foi determinado usando um método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu modificado (BUDINI et al., 1980) conforme previamente descrito no Capítulo 2. Os resultados foram expressos em miligramas (mg) de equivalentes a ácido gálico (EAG) . 100g<sup>-1</sup> de peso fresco (PF).

A determinação do conteúdo de flavanóis totais foi realizada de acordo com o método DMACA modificado descrito por Arnous et al. (2002). Um mililitro de extrato (1 mL) foi misturado a 5 mL da solução DMACA (0,1 % em MeOH HCl 1 N). A mistura foi agitada em vortex e

em seguida mantida em temperatura ambiente por 10 min. Após este período a absorbância foi lida a 640 nm. A concentração de flavanóis totais foi calculada a partir da curva de calibração, preparada com uma solução de catequina e os resultados foram expressos em mg de equivalentes a catequina . 100g<sup>-1</sup> PF.

## 2.5 Conteúdo de antocianinas monoméricas totais

O conteúdo de antocianinas monoméricas totais foi determinado somente na casca das maçãs pelo método da diferença de pH (GIUSTI; WROSTALD, 2001), conforme previamente descrito no Capítulo 2. Os resultados foram expressos em mg de cianidina 3-galactosídeo . 100g<sup>-1</sup> PF.

## 2.6 Atividade antioxidante

Há diversos e complexos métodos para avaliar a atividade antioxidante, os quais variam de acordo com as condições experimentais, das facilidades de instalações para análises e do interesse do investigador. Devido à falta de um método padrão ouro para a determinação da atividade antioxidante, informações válidas e confiáveis podem ser obtidas pela aplicação de um conjunto de métodos analíticos (WOJDYLO et al., 2008). Neste sentido, a determinação da atividade antioxidante dos extratos acetônicos foi avaliada de acordo com os métodos ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) e FRAP (potencial antioxidante redutor férrico).

O método ABTS utilizado foi o descrito por Re et al. (1999). O radical ABTS<sup>•+</sup> é formado por uma reação química com persulfato de potássio em uma relação estequiométrica de 1:0,5. Uma vez formado o radical ABTS<sup>•+</sup> foi diluído em etanol até obter-se uma medida de absorbância de 0,70 (± 0,05) a um comprimento de onda de 734 nm. Curvas com soluções padrões de Trolox (antioxidante sintético similar a vitamina E) foram construídas. Os resultados foram expressos em termos de atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC, µMol de equivalentes trolox . 100g<sup>-1</sup> PF).

O método DPPH, ou seja, a capacidade dos antioxidantes presentes na amostra de seqüestrar o radical estável DPPH<sup>•</sup>, foi aplicado de acordo com o método desenvolvido por Brand-Willams et al. (1995). A medida de absorbância foi realizada no comprimento de onda de 515

nm, antes de adicionar a amostra ( $A_0$ ) e após a adição da amostra a 30 min de reação ( $A_f$ ). A concentração de DPPH $\cdot$  no meio de reação foi calculada conforme a curva de calibração e os resultados foram expressos em TEAC ( $\mu\text{Mol}$  de equivalentes trolox  $\cdot 100\text{g}^{-1}$  de peso fresco).

Para determinar o poder redutor aplicou-se o método FRAP previamente descrito por Benzie e Strain (1996). O método é baseado na medida direta da habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzirem em meio ácido (pH 3,6) o complexo  $\text{Fe}^{3+}$ /tripiridiltriazina (TPTZ) para formar  $\text{Fe}^{2+}$ , de intensa cor azul. A absorbância foi medida em comprimento de onda de 620 nm e o resultado foi expresso em TEAC ( $\mu\text{Mol}$  de equivalentes trolox  $\cdot 100\text{g}^{-1}$  de peso fresco).

## 2.7 Análises estatísticas

Todas as análises foram efetuadas em triplicata. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio-padrão. As diferenças entre as médias foram avaliadas através da análise de variância (ANOVA) univariada seguida de teste de Tukey. A relação entre a atividade antioxidante e o conteúdo de compostos fenólicos foi avaliado através da análise de regressão linear simples. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa “STATISTICA 7”, admitindo nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

## 3 RESULTADOS

### 3.1 Características físico-químicas

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados das análises químicas das onze cultivares de maçãs analisadas. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre os valores médios de matéria seca, sólidos solúveis totais, pH, açúcares totais e acidez total titulável. A matéria seca variou entre 14,01 % (Golden Delicious) e 20,95 % (Catarina). O teor de sólidos solúveis totais oscilou entre 12,2 (Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub>) e 15,2 (Catarina) °Brix. Em relação aos valores de pH, foram observados valores máximos de 3,56 (Fuji Suprema) e mínimos de 2,93 (COOP-24). O conteúdo de açúcares totais variou entre 9,90 (Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub>) e 12,64 (Catarina) g.100g<sup>-1</sup>. A acidez total titulável apresentou valores que variaram entre 0,27 (Fuji Precoces)

e 0,70 (COOP-24) g.100g<sup>-1</sup>. A relação açúcar/ácido das cultivares variou entre 15,40 (COOP-24) e 42,97 (Fuji Precoce).

**Tabela 1** Matéria seca, sólidos solúveis totais (SST), pH, açúcares totais (AT), acidez titulável (ATT) e relação açúcar/ácido de onze cultivares de maçãs.

Cultivar	Matéria Seca (%)	SST (°Brix)	pH	Açúcares totais (g.100g <sup>-1</sup> )	Acidez titulável (g.100g <sup>-1</sup> )	Açúcar/Ácido
Fuji	18,43±		3,39±	12,08±	0,32±0,00 <sup>c</sup>	37,60
Standard	0,44 <sup>cd</sup>	14,2 <sup>b</sup>	0,00 <sup>c</sup>	0,16 <sup>ab</sup>		
Fuji	14,44±		3,40±	11,76±	0,27±0,00 <sup>f</sup>	42,97
Precoce	0,00 <sup>f</sup>	12,9 <sup>d</sup>	0,00 <sup>c</sup>	0,16 <sup>bc</sup>		
Fuji	19,85±		3,56±	11,98±	0,31±0,00 <sup>e</sup>	38,08
Suprema	0,21 <sup>b</sup>	14,0 <sup>b</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,33 <sup>ab</sup>		
Fuji Kiku 8	18,80±		3,45±	10,23±	0,30±0,01 <sup>ef</sup>	36,45
	0,35 <sup>bcd</sup>	13,0 <sup>cd</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,48 <sup>cde</sup>		
Catarina	20,95±	15,2 <sup>a</sup>	3,55±	12,64±	0,42±0,00 <sup>c</sup>	29,72
	0,00 <sup>a</sup>		0,00 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a</sup>		
Golden	14,01±		3,55±	10,95±	0,44±0,00 <sup>c</sup>	25,30
Delicious	0,10 <sup>f</sup>	12,4 <sup>e</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,10 <sup>cdef</sup>		
Epagri-SJ11	19,51±		3,40±	11,56±	0,39±0,00 <sup>d</sup>	29,46
	0,2 <sup>bc</sup>	13,0 <sup>d</sup>	0,00 <sup>c</sup>	0,16 <sup>bcd</sup>		
Epagri-F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	19,40±		3,19±	10,11±	0,56±0,01 <sup>b</sup>	18,07
	0,0 <sup>bc</sup>	13,5 <sup>e</sup>	0,00 <sup>e</sup>	0,12 <sup>fg</sup>		
COOP-24	18,04±		2,93±	10,82±	0,70±0,00 <sup>a</sup>	15,40
	0,1 <sup>d</sup>	13,0 <sup>d</sup>	0,00 <sup>f</sup>	0,42 <sup>def</sup>		
Epagri-F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	16,15±		3,33±	10,67±	0,56±0,01 <sup>b</sup>	18,83
	0,5 <sup>e</sup>	13,0 <sup>d</sup>	0,00 <sup>d</sup>	0,13 <sup>efg</sup>		
Epagri-F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	18,42±		3,42±	9,90±	0,36±0,00 <sup>d</sup>	27,27
	0,1 <sup>cd</sup>	12,2 <sup>e</sup>	0,00 <sup>bc</sup>	0,11 <sup>g</sup>		

Resultados são expressos como média ± Desvio Padrão de três repetições em triplicata.

Medidas seguidas pelas mesmas letras, na vertical, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

### 3.2 Fenólicos, flavanóis e antocianinas monoméricas totais

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados do conteúdo de fenólicos totais na polpa, fruta inteira e casca das onze cultivares de maçãs estudadas. Os resultados demonstraram que o conteúdo de fenólicos totais, para todas as cultivares foi significativamente maior na

casca, seguido da fruta inteira e polpa ( $p < 0.05$ ).

Entre as cultivares, também foram observadas diferenças estatísticas significativas na comparação entre as partes das frutas. Na polpa, a cultivar Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub> (212,01±1,09 mg EAG .100 g<sup>-1</sup>) apresentou significativamente o maior conteúdo de fenólicos totais, seguida pelas cultivares Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub>, Catarina e Fuji Suprema (186,09±3,86; 183,42±8,53 e 179,58±1,58 mg EAG .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente). A polpa da cultivar Golden Delicious (128,33±4,51 mg EAG .100 g<sup>-1</sup>) apresentou significativamente o menor teor de fenólicos totais, seguida pelas cultivares Fuji Precoce e Fuji Standard (140,54±2,12 e 137,47±3,57 mg EAG .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente). Na fruta inteira, o maior teor de fenólicos totais foi observado nas cultivares Catarina e Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> (251,50±6,80 e 245,68±6,76 mg EAG .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente), seguidas pela cultivar Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub> (236,33±1,90 mg EAG .100 g<sup>-1</sup>), enquanto que os menores conteúdos foram observados nas cultivares Golden Delicious e Fuji Precoce (150,12±3,08 e 159,24±4,50 mg EAG .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente), seguida pelas cultivares Fuji Standard e Fuji Kiku 8 (161,08±4,55 e 172,30±4,78 mg EAG .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente). Na casca, o conteúdo de fenólicos totais também apresentou grande variação entre as cultivares, sendo que a cultivar Catarina (712,65±15,08 mg EAG .100 g<sup>-1</sup>) apresentou significativamente o maior conteúdo de fenólicos totais, seguida pelas cultivares Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> e Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub> (671,38±5,98 e 645,23±4,34 mg EAG .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente), enquanto que o menor teor foi encontrado nas cascas da cultivar Golden Delicious (304,66±3,74 mg EAG .100 g<sup>-1</sup>), seguida pelas cultivares Fuji Precoce, Epagri-SJ11 e Fuji Standard (481,01±2,44, 489,83±2,75, 499,22±5,55 mg EAG .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente) (Tabela 2).

**Tabela 2** Fenólicos totais (mg EAG .100g<sup>-1</sup>) na polpa, fruta inteira e casca de onze cultivares de maçãs.

Cultivar	Polpa	Fruta inteira	Casca
Fuji Standard	137,47±1,98 <sup>c, F</sup>	161,08±4,55 <sup>b, FG</sup>	499,22±5,55 <sup>a, E</sup>
Fuji Precoce	140,54±2,12 <sup>c, F</sup>	159,24±4,50 <sup>b, FG</sup>	481,01±2,44 <sup>a, E</sup>
Fuji Suprema	179,58±1,58 <sup>c, BC</sup>	218,38±3,57 <sup>b, C</sup>	588,02±6,50 <sup>a, C</sup>
Fuji Kiku 8	155,75±2,07 <sup>c, E</sup>	172,30±4,78 <sup>b, EF</sup>	567,84±26,57 <sup>a, C</sup>
Catarina	183,42±8,53 <sup>c, B</sup>	251,50±6,80 <sup>b, A</sup>	712,65±15,08 <sup>a, A</sup>
Golden Delicious	128,33±4,51 <sup>c, G</sup>	150,12±3,08 <sup>b, G</sup>	304,66±3,74 <sup>a, F</sup>
Epagri-SJ11	159,55±5,36 <sup>c, DE</sup>	177,55±6,86 <sup>b, DE</sup>	489,83±2,75 <sup>a, E</sup>
Epagri-F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	186,09±3,86 <sup>c, B</sup>	245,68±6,76 <sup>b, AB</sup>	671,38±5,98 <sup>a, B</sup>
COOP-24	164,22±1,86 <sup>c, DE</sup>	191,78±6,31 <sup>b, D</sup>	575,59±12,29 <sup>a, C</sup>
Epagri-F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	169,17±5,21 <sup>c, CD</sup>	217,32±3,10 <sup>b, C</sup>	534,22±9,08 <sup>a, D</sup>
Epagri-F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	212,01±1,09 <sup>c, A</sup>	236,33±1,90 <sup>b, B</sup>	645,23±4,34 <sup>a, B</sup>

<sup>a-c:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras minúsculas, na horizontal, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as partes da fruta de cada cultivar.

<sup>A-G:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras maiúsculas, na vertical, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as cultivares.

Em todas as cultivares, assim como observado na análise de fenólicos totais, o conteúdo de flavanóis totais foi significativamente maior na casca do que na fruta inteira e na polpa, e o conteúdo na fruta inteira foi significativamente maior do que na polpa para todas as cultivares ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3).

Na comparação das partes das frutas entre as cultivares também foram observadas diferenças estatísticas significantes. Na polpa, a cultivar Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> (28,28±1,20 mg catequina .100 g<sup>-1</sup>) apresentou significativamente o maior conteúdo de flavanóis totais, seguida pelas cultivares Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> e Catarina (24,70±1,01 e 22,94±0,72 mg catequina .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente). A polpa da cultivar Epagri-SJ11 (7,86±0,15 mg catequina .100 g<sup>-1</sup>) apresentou significativamente o menor teor de flavanóis totais, seguida pelas cultivares Golden Delicious e Fuji Precoce (11,73±0,72 e 12,45±0,07 mg catequina .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente) (Tabela 3).

Na fruta inteira, o maior teor de flavanóis totais foi observado na cultivar Catarina (50,28±1,35 mg catequina .100 g<sup>-1</sup>), seguida pelas cultivares Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> e Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> (38,73±0,70 e 32,93±0,71 mg catequina .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente), enquanto que o menor conteúdo foi observado na cultivar Epagri-SJ11 (10,70±0,13 mg catequina .100 g<sup>-1</sup>),

seguida pelas cultivares Golden Delicious, Fuji Precoce e Fuji Kiku 8 ( $18,10 \pm 0,56$ ,  $20,76 \pm 0,05$  e  $21,31 \pm 1,02$  mg catequina  $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , respectivamente). Na casca, o conteúdo de flavanóis totais também apresentou grande variação entre as cultivares, sendo que a cultivar Catarina ( $147,75 \pm 3,66$  mg catequina  $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) apresentou significativamente o maior conteúdo, seguida pelas cultivares Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub>, Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> e Fuji Suprema ( $121,51 \pm 3,50$ ,  $93,88 \pm 4,42$  e  $93,98 \pm 0,82$  mg catequina  $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , respectivamente), enquanto que o menor teor foi encontrado nas cascas da cultivar Epagri-SJ11 ( $32,42 \pm 0,95$  mg catequina  $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), seguida pelas cultivares Golden Delicious, Fuji Precoce e Fuji Standard ( $58,24 \pm 1,44$ ,  $60,95 \pm 2,08$  e  $63,69 \pm 0,66$  mg catequina  $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , respectivamente) (Tabela 3).

**Tabela 3** Flavanóis totais (mg catequina  $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) na polpa, fruta inteira e casca de onze cultivares de maçãs.

Cultivar	Polpa	Fruta inteira	Casca
Fuji Standard	$18,49 \pm 0,11^{c,D}$	$24,99 \pm 0,18^{b,E}$	$63,69 \pm 0,66^{a,EF}$
Fuji Precoce	$12,45 \pm 0,07^{c,F}$	$20,76 \pm 0,05^{b,F}$	$60,95 \pm 2,08^{a,EF}$
Fuji Suprema	$22,00 \pm 0,69^{c,C}$	$26,59 \pm 0,18^{b,DE}$	$93,98 \pm 0,82^{a,C}$
Fuji Kiku 8	$14,60 \pm 0,09^{c,E}$	$21,31 \pm 1,02^{b,F}$	$82,35 \pm 2,69^{a,D}$
Catarina	$22,94 \pm 0,72^{c,BC}$	$50,28 \pm 1,35^{b,A}$	$147,75 \pm 3,66^{a,A}$
Golden Delicious	$11,73 \pm 0,72^{c,F}$	$18,10 \pm 0,56^{b,G}$	$58,24 \pm 1,44^{a,F}$
Epagri-SJ11	$7,86 \pm 0,15^{c,G}$	$10,70 \pm 0,13^{b,H}$	$32,42 \pm 0,95^{a,G}$
Epagri-F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	$28,28 \pm 1,20^{c,A}$	$38,73 \pm 0,70^{b,B}$	$121,51 \pm 3,50^{a,B}$
COOP-24	$19,39 \pm 0,13^{c,D}$	$27,91 \pm 0,86^{b,D}$	$82,14 \pm 4,06^{a,D}$
Epagri-F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	$24,70 \pm 1,01^{c,B}$	$32,93 \pm 0,71^{b,C}$	$93,88 \pm 4,42^{a,C}$
Epagri-F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	$18,69 \pm 0,15^{c,D}$	$25,20 \pm 0,32^{b,E}$	$66,77 \pm 1,19^{a,E}$

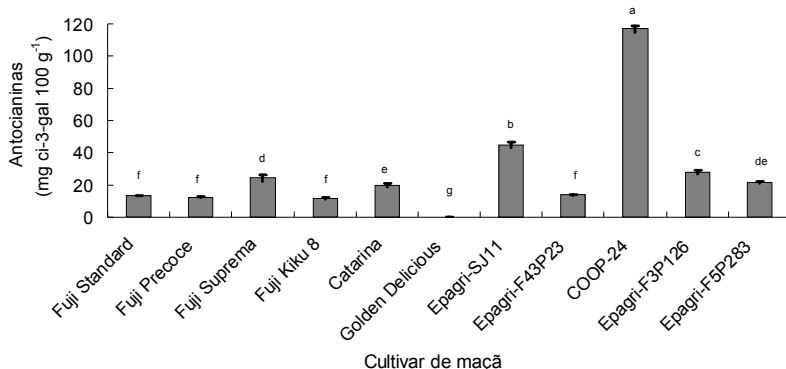
<sup>a-c:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras minúsculas, na horizontal, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as partes da fruta de cada cultivar.

<sup>A-H:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras maiúsculas, na vertical, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as cultivares.

Diferenças estatisticamente significante entre as cultivares também foram observadas em relação ao conteúdo de antocianinas monoméricas totais (AMT) na casca (Figura 1). A casca da cultivar COOP-24 apresentou o maior conteúdo de AMT ( $116,86 \pm 1,83$  mg cianidina 3-galactosídeo  $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), seguida pela cultivar Epagri-SJ11 e Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> ( $44,81 \pm 1,82$  e  $27,80 \pm 1,23$  mg cianidina 3-galactosídeo  $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , respectivamente), sendo estas três, cultivares de frutos com



coloração da epiderme vermelho sólido. Nas cascas dos frutos da cultivar Golden Delicious cuja cor da epiderme é verde-amarelada, não foram detectadas AMT. Os menores conteúdos de AMT foram observados na casca das cultivares Fuji Kiku 8, Fuji Precoce, Fuji Standard e Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> ( $11,68 \pm 0,57$ ,  $12,37 \pm 0,41$ ,  $13,34 \pm 0,08$  e  $13,74 \pm 0,39$  mg cianidina 3-galactosídeo .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente) (Figura 1).



**Figura 1** Antocianinas monoméricas totais (mg cianidina-3-galactosídeo .100 g<sup>-1</sup>) na casca de onze cultivares de maçã.

<sup>a-g</sup>: Medidas seguidas por diferentes letras maiúsculas, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

### 3.3 Atividade antioxidante

Nas Tabelas 4, 5 e 6 estão apresentados os resultados da atividade antioxidante, analisados pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP, dos extratos acetônicos da polpa, fruta inteira e casca das onze cultivares de maçãs. Em concordância com o observado na análise de fenólicos e flavanóis totais, em todas as cultivares, a atividade antioxidante, analisada pelos três métodos, foi significativamente maior na casca do que na fruta inteira e na polpa, e o conteúdo na fruta inteira foi significativamente maior do que na polpa ( $p < 0,05$ ).

Na comparação das partes das frutas entre as cultivares também foram observadas diferenças estatísticas significantes na atividade antioxidante, pelos três métodos. As polpas das cultivares Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub>, Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> e Catarina apresentaram a maior atividade antioxidante

pelos três métodos, enquanto que as cultivares Golden Delicious, Fuji Precoce e Fuji Standard apresentaram a menor atividade antioxidante pelos três métodos. Na fruta inteira e na casca, as cultivares Catarina, Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> e Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub> apresentaram a maior atividade antioxidante pelos três métodos, enquanto que as cultivares Golden Delicious e Fuji Precoce apresentaram a menor atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH e as frutas inteiras das cultivares Golden Delicious e Fuji Kiku 8 e as cascas das cultivares Golden Delicious e Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> apresentaram a menor atividade antioxidante pelo método FRAP (Tabelas 4, 5 e 6).

**Tabela 4** Atividade antioxidante (método ABTS,  $\mu\text{Mol TEAC} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) na polpa, fruta inteira e casca de onze cultivares de maçãs.

Cultivar	Polpa	Fruta inteira	Casca
Fuji Standard	539,82±6,44 <sup>c, E</sup>	739,60±10,50 <sup>b, D</sup>	2064,46±6,02 <sup>a, D</sup>
Fuji Precoce	485,60±1,89 <sup>c, F</sup>	628,83±16,44 <sup>b, E</sup>	1745,90±46,13 <sup>a, F</sup>
Fuji Suprema	638,41±5,13 <sup>c, CD</sup>	1008,95±6,60 <sup>b, B</sup>	2070,46±3,86 <sup>a, D</sup>
Fuji Kiku 8	551,49±5,42 <sup>c, E</sup>	787,82±31,80 <sup>b, CD</sup>	2057,68±18,31 <sup>a, D</sup>
Catarina	738,98±16,42 <sup>c, B</sup>	1242,34±15,89 <sup>b, A</sup>	4144,97±7,29 <sup>a, A</sup>
Golden Delicious	380,82±13,14 <sup>c, G</sup>	600,57±9,59 <sup>b, E</sup>	1225,53±12,29 <sup>a, G</sup>
Epagri-SJ11	600,08±7,43 <sup>c, D</sup>	837,59±14,30 <sup>b, C</sup>	1863,99±20,45 <sup>a, E</sup>
Epagri-F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	756,21±21,56 <sup>c, B</sup>	1205,03±18,70 <sup>b, A</sup>	3429,77±14,29 <sup>a, B</sup>
COOP-24	648,44±8,71 <sup>c, C</sup>	810,94±12,39 <sup>b, C</sup>	2082,52±6,28 <sup>a, D</sup>
Epagri-F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	676,49±6,47 <sup>c, C</sup>	1004,52±24,38 <sup>b, B</sup>	2044,11±19,55 <sup>a, D</sup>
Epagri-F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	960,70±27,83 <sup>c, A</sup>	1053,02±41,82 <sup>b, B</sup>	2788,86±25,25 <sup>a, C</sup>

<sup>a-c:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras minúsculas, na horizontal, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as partes da fruta de cada cultivar.

<sup>A-H:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras maiúsculas, na vertical, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as cultivares.

**Tabela 5** Atividade antioxidante (método DPPH,  $\mu\text{Mol TEAC} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) na polpa, fruta inteira e casca de onze cultivares de maçãs.

Cultivar	Polpa	Fruta inteira	Casca
Fuji Standard	509,29±8,49 <sup>c, F</sup>	716,29±10,82 <sup>b, CD</sup>	1966,80±4,15 <sup>a, E</sup>
Fuji Precoce	479,50±8,44 <sup>c, F</sup>	607,71±10,90 <sup>b, E</sup>	1741,64±13,80 <sup>a, G</sup>
Fuji Suprema	636,71±15,82 <sup>c, CD</sup>	979,40±23,63 <sup>b, B</sup>	2030,46±35,54 <sup>a, D</sup>
Fuji kiku 8	512,60±6,52 <sup>c, F</sup>	757,51±2,16 <sup>b, C</sup>	2041,30±7,78 <sup>a, D</sup>
Catarina	679,28±3,26 <sup>c, BC</sup>	1275,25±27,54 <sup>b, A</sup>	3877,73±28,23 <sup>a, A</sup>
Golden			
Delicious	346,44±5,50 <sup>c, G</sup>	578,30±9,06 <sup>b, E</sup>	1004,00±13,71 <sup>a, H</sup>
Epagri-SJ11	591,44±9,87 <sup>c, DE</sup>	700,18±17,58 <sup>b, D</sup>	1796,02±19,66 <sup>a, F</sup>
Epagri-F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	723,72±14,60 <sup>c, B</sup>	1266,67±6,91 <sup>b, A</sup>	2428,65±10,65 <sup>a, B</sup>
COOP-24	567,61±26,63 <sup>c, E</sup>	727,80±37,73 <sup>b, CD</sup>	2043,78±15,30 <sup>a, D</sup>
Epagri-F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	616,40±12,34 <sup>c, DE</sup>	995,48±26,94 <sup>b, B</sup>	2020,97±7,32 <sup>a, D</sup>
Epagri-F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	891,21±7,94 <sup>c, A</sup>	996,58±9,69 <sup>b, B</sup>	2143,93±12,23 <sup>a, C</sup>

<sup>a-c:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras minúsculas, na horizontal, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as partes da fruta de cada cultivar.

<sup>A-H:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras maiúsculas, na vertical, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as cultivares.

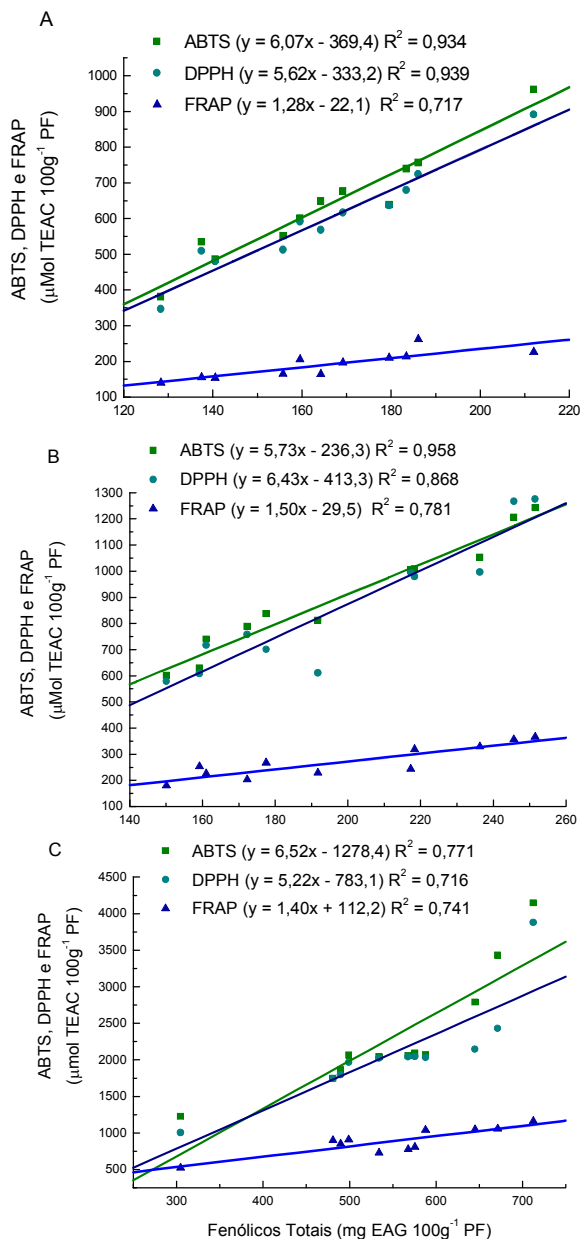
**Tabela 6** Atividade antioxidante (método FRAP,  $\mu\text{Mol TEAC} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) na polpa, fruta inteira e casca de onze cultivares de maçãs.

Cultivar	Polpa	Fruta inteira	Casca
Fuji Standard	155,64 $\pm$ 6,32 <sup>c, D</sup>	225,24 $\pm$ 3,79 <sup>b, E</sup>	907,41 $\pm$ 65,72 <sup>a, C</sup>
Fuji Precoce	154,06 $\pm$ 2,65 <sup>c, D</sup>	253,06 $\pm$ 2,36 <sup>b, CD</sup>	897,40 $\pm$ 22,83 <sup>a, C</sup>
Fuji Suprema	210,32 $\pm$ 4,63 <sup>c, BC</sup>	318,46 $\pm$ 10,74 <sup>b, B</sup>	1038,42 $\pm$ 4,64 <sup>a, B</sup>
Fuji Kiku 8	164,96 $\pm$ 10,41 <sup>c, D</sup>	202,52 $\pm$ 4,27 <sup>b, F</sup>	775,15 $\pm$ 59,03 <sup>a, DE</sup>
Catarina	213,48 $\pm$ 4,16 <sup>c, BC</sup>	365,64 $\pm$ 8,47 <sup>b, A</sup>	1160,58 $\pm$ 22,74 <sup>a, A</sup>
Golden			
Delicious	140,21 $\pm$ 6,46 <sup>c, D</sup>	179,49 $\pm$ 4,81 <sup>b, G</sup>	520,71 $\pm$ 7,82 <sup>a, F</sup>
Epagri-SJ11	205,74 $\pm$ 3,31 <sup>c, BC</sup>	267,24 $\pm$ 8,70 <sup>b, C</sup>	851,44 $\pm$ 33,02 <sup>a, CD</sup>
Epagri-F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	261,74 $\pm$ 19,76 <sup>c, A</sup>	356,02 $\pm$ 11,70 <sup>b, A</sup>	1056,46 $\pm$ 15,24 <sup>a, B</sup>
COOP-24	164,33 $\pm$ 5,75 <sup>c, D</sup>	228,14 $\pm$ 6,06 <sup>b, E</sup>	808,23 $\pm$ 42,66 <sup>a, CDE</sup>
Epagri-F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	196,57 $\pm$ 1,90 <sup>c, C</sup>	243,07 $\pm$ 6,77 <sup>b, DE</sup>	727,23 $\pm$ 16,60 <sup>a, E</sup>
Epagri-F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	225,82 $\pm$ 11,01 <sup>c, B</sup>	328,64 $\pm$ 9,83 <sup>b, B</sup>	1047,92 $\pm$ 30,55 <sup>a, B</sup>

<sup>a-c</sup>: Medidas seguidas por diferentes letras minúsculas, na horizontal, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as partes da fruta de cada cultivar.

<sup>A-G</sup>: Medidas seguidas por diferentes letras maiúsculas, na vertical, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as cultivares.

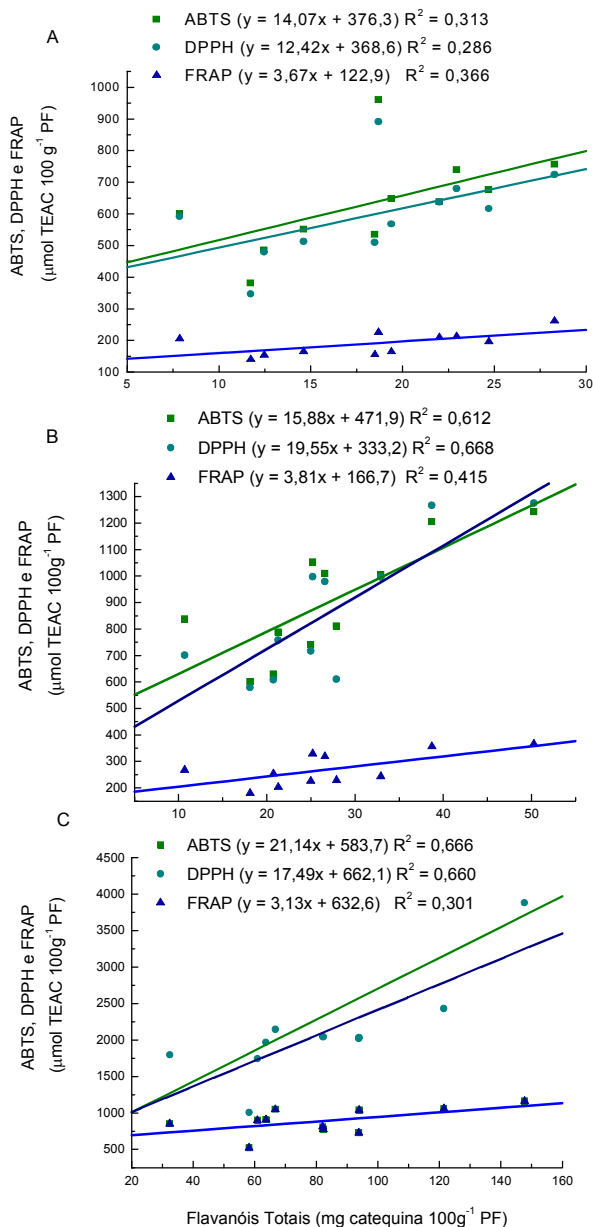
Foi observada uma relação positiva e significante ( $p < 0,05$ ) entre a concentração de fenólicos totais e a atividade antioxidante, medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP nos extratos da polpa ( $R^2 = 0,934, 0,939$  e  $0,717$ , respectivamente) (Figura 2A), fruta inteira ( $R^2 = 0,958, 0,868$  e  $0,781$ , respectivamente) (Figura 2B) e casca ( $R^2 = 0,771, 0,716$  and  $0,741$ , respectivamente) (Figura 2C) das cultivares analisadas, embora uma relação mais fraca tenha sido observada na casca comparados à polpa e à fruta inteira.



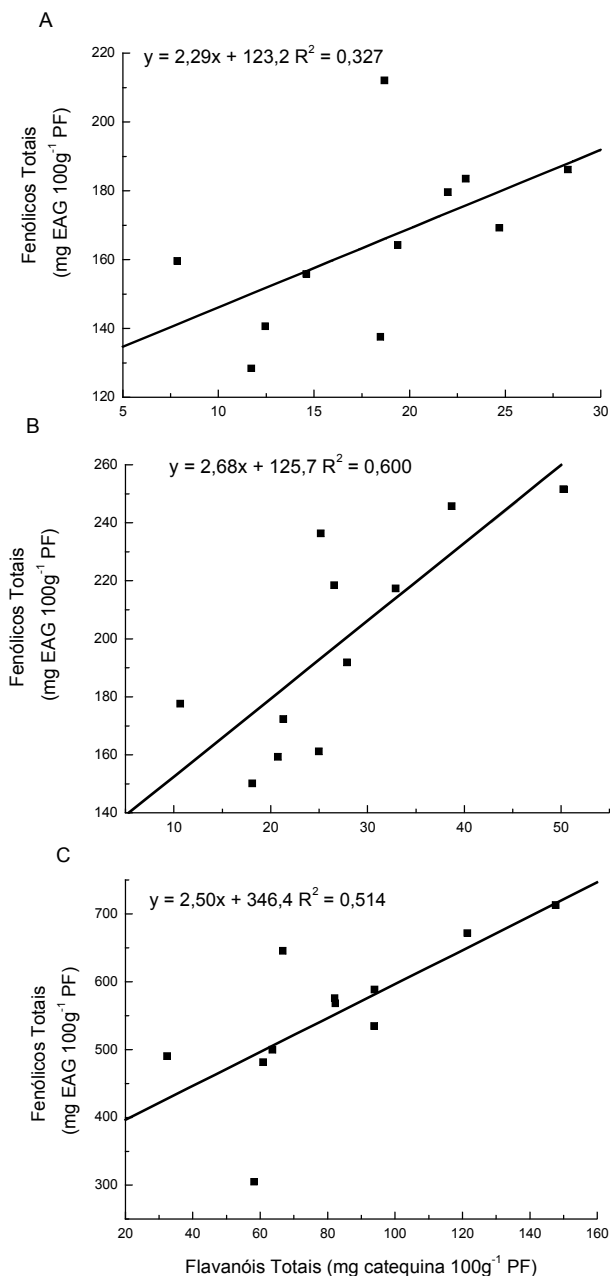
**Figura 2** Relação entre fenólicos totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP na polpa (A), fruta inteira (B) e casca (C) de onze cultivares de maçã.

Além disso, neste estudo, foi observada uma fraca relação ( $p > 0,05$ ) entre flavanóis totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP na polpa ( $R^2 = 0,313$ ,  $0,286$  and  $0,366$ , respectivamente) (Figura 3A), e flavanóis totais e atividade antioxidante medida pelo método FRAP na casca ( $R^2 = 0,301$ ) (Figura 3C). Contudo, houve uma relação positiva e significativa ( $p < 0,05$ ) entre flavanóis totais e atividade antioxidante, medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP na fruta inteira ( $R^2 = 0,612$ ,  $0,668$  and  $0,415$ , respectivamente) (Figura 3B) e entre flavanóis totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS e DPPH na casca ( $R^2 = 0,666$  and  $0,660$ , respectivamente) (Figura 3C).

Foi observado também que maçãs as quais contêm maior conteúdo de flavanóis totais também apresentam em geral maior conteúdo de fenólicos totais e este resultado foi confirmado pela relação positiva entre o conteúdo de fenólicos totais e flavanóis totais na polpa (Figura 4A), fruta inteira (Figura 4B) e casca (Figura 4C) ( $R^2 = 0,327$ ,  $R^2 = 0,600$  e  $R^2 = 0,514$ , respectivamente), embora uma significativa associação tenha sido observada apenas na fruta inteira e na casca ( $p < 0,05$ ). O conteúdo de antocianinas monoméricas totais na casca não foi relacionado a nenhum dos parâmetros avaliados (dados não mostrados em figuras).



**Figura 3** Relação entre flavanóis totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP na polpa (A), fruta inteira (B) e casca (C) de onze cultivares de maçã.



**Figura 4** Relação entre flavanóis totais e fenólicos totais na polpa (A), fruta inteira (B) e casca (C) de onze cultivares de maçã.



## 4 DISCUSSÃO

Grandes variações entre as cultivares de maçã foram observadas quanto aos parâmetros da caracterização físico-química analisados. Estes resultados são semelhantes aos observados em estudos prévios. Em relação ao conteúdo de matéria seca resultados semelhantes aos observados neste estudo foram encontrados em seis cultivares de maçãs colhidas em Caçador/SC, com valores variando entre 15,24 e 19,55 % (VIEIRA et al., 2009). Quanto ao conteúdo de sólidos solúveis totais, pH, açúcares totais e acidez total titulável os resultados deste estudo são consistentes aos observados no estudo de Wu et al. (2007) em oito cultivares de maçã colhidas na China, os quais observaram conteúdo de sólidos solúveis totais entre 10,48 e 14,68 °Brix, valores de pH entre 3,40 e 4,16, açúcares totais entre 8,37 e 12,5 g .100g<sup>-1</sup> e acidez titulável entre 0,28 e 0,73 g .100g<sup>-1</sup>. A relação açúcar/acidez é utilizada para caracterizar as maçãs quanto ao seu sabor (PETKOVSEK et al., 2007; WU et al., 2007). Cultivares de maçã com relação açúcar/acidez menor do que 20 são consideradas ácidas e apropriadas para o processamento e produção de cidra, enquanto que cultivares com relação açúcar/ acidez maiores do que 20 são doces, e indicadas para o consumo in natura (LEA, 1995). Neste estudo, as cultivares Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub>, COOP-24, Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> apresentaram relação açúcar/ acidez abaixo de 20, sendo, portanto classificadas como frutas ácidas e indicadas para o processamento e produção de cidras e sucos. As demais cultivares apresentaram relação açúcar/acidez acima de 20, classificadas como cultivares doces (Tabela 1).

O conteúdo de fenólicos, flavanóis e antocianinas monoméricas totais e a atividade antioxidante variou consideravelmente dependendo da parte da fruta e da cultivar analisada. As variações observadas neste estudo demonstram que a variabilidade genética é responsável pelas diferenças na composição química entre as cultivares selecionadas, uma vez que as comparações foram realizadas somente entre cultivares plantadas no mesmo local, com a utilização de práticas agrícolas semelhantes e na mesma safra.

A casca das maçãs apresentou conteúdo de compostos fenólicos significativamente maiores comparados com a polpa e a fruta inteira. Semelhantes resultados quanto ao conteúdo de fenólicos totais das partes das maçãs foi encontrado entre cultivares estudadas em diferentes países (WOLFE et al., 2003; McGHIE et al., 2005; D'ABROSCA et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; LATA; TOMALA, 2007). Wolfe et al. (2003) reportaram valores de fenólicos totais na polpa, fruta inteira e

casca de quatro cultivares de maçãs colhidas nos Estados Unidos, entre 75,7 – 103,2; 119,0 – 159,0 e 309,1 – 588,9 mg EAG .100 g<sup>-1</sup> peso fresco, respectivamente. Eberhardt et al (2000) encontraram valores de fenólicos totais na polpa e fruta inteira de maçãs da cultivar Red Delicious, a principal cultivar plantada e consumida nos Estados Unidos, na ordem de 219,8 e 290,2 mg EAG .100 g<sup>-1</sup> peso fresco, respectivamente, resultado semelhante ao observado neste estudo entre as cultivares com maior conteúdo de fenólicos totais. A cultivar Golden Delicious apresentou menor conteúdo de fenólicos totais do que as demais cultivares. Vários autores também observaram que a cultivar Golden Delicious apresentou, entre as cultivares analisadas, um dos menores conteúdos de fenólicos totais (SCALZO et al., 2005; LATA, 2007; PETKOVSEK et al., 2007). A natureza e a distribuição dos compostos fenólicos entre a polpa e a casca das maçãs são diferentes (TSAO et al., 2005). Entre outros, a polpa contém catequina, procianidinas, floridzina, floretina glicosídeos, ácido caféico e ácido clorogênico, enquanto que as cascas apresentam além destes compostos antocianinas e quercitina glicosídeos (CHINNICI et al., 2004; TSAO et al., 2005; KHANIZADEH et al., 2008). Neste estudo a casca e a fruta inteira apresentaram, respectivamente, entre 2,4 e 3,9 e entre 1,1 e 1,4 vezes mais conteúdo de fenólicos totais do que a polpa, conforme observado também por outros pesquisadores (WOLFE et al., 2003; PETKOVSEK et al., 2007). Segundo Petkovsek et al. (2007), estas diferenças são principalmente devido as quercitinas glicosídeos, bem como as elevadas concentrações de catequina e ácido clorogênico presentes na casca.

Em relação ao conteúdo de flavanóis, Tsao et al. (2005) e Khanizadeh et al. (2008), observaram que a catequina, epicatequina e as procianindinas B1 e B2 são os principais flavanóis presentes em quantidades apreciáveis tanto na casca quanto na polpa de maçãs. Neste estudo, o conteúdo de flavanóis totais observado na casca e fruta inteira foi, respectivamente, cerca de 3,8 a 6,5 e 1,3 a 2,2 vezes maior do que na polpa. A variação observada no conteúdo de flavanóis totais entre a polpa, fruta inteira e casca das maçãs investigadas e entre as cultivares está em conformidade com o verificado em estudos prévios (LIU et al., 2001; TSAO et al., 2003). Petkovsek et al. (2007), observaram que as cascas de maçãs de nove cultivares colhidas na Eslovênia, apresentaram cerca de 5,7 vezes mais catequina e 7,6 vezes mais epicatequina, em comparação com as suas polpas. No estudo de Khanizadeh et al. (2008), semelhante ao observado no presente estudo, o conteúdo de flavanóis totais variou entre 45,2 e 92,0 mg catequina .100 g<sup>-1</sup> peso fresco na

casca e entre 11,9 e 30 mg catequina .100 g<sup>-1</sup> peso fresco na polpa.

Neste estudo, o conteúdo de antocianinas monoméricas totais das cascas das maçãs foi relacionado à sua aparência. A cor vermelha da casca da maçã é devida a presença de cianidina 3-galactosídeo, a antocianina presente em maior quantidade em cultivares de maçãs vermelhas ou parcialmente vermelhas (TSAO et al., 2005; IGLESIAS et al., 2008). As cultivares com maiores conteúdos de antocianinas monoméricas totais na casca, tais como a COOP-24, Epagri-SJ11, Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> e Fuji Suprema constituem cultivares com coloração da epiderme vermelho sólido, enquanto que as cultivares que apresentaram as menores quantidades de antocianinas, apresentam coloração da epiderme vermelho estriada (cultivares bi-coloridas). Lata e Tomala (2007), observaram conteúdo de antocianinas monoméricas totais entre 38 e 782 mg cianidina 3-glu .100g<sup>-1</sup> peso fresco nas cascas de dezenove cultivares de maçãs colhidas na Polônia. Vieira et al. (2009), reportaram valores de antocianinas monoméricas totais entre 4,79 e 41,96 mg cianidina 3-gal .100g<sup>-1</sup> peso fresco nas cascas de seis cultivares de maçãs colhidas em Caçador/SC. Diferentes cultivares analisadas e locais de cultivo podem ser responsáveis pelas diferenças observadas entre os estudos.

Os resultados deste estudo foram semelhantes a vários estudos prévios que observaram que a maçã apresenta elevada atividade antioxidante e que os valores variam entre as cultivares e as partes das frutas analisadas (EBERHARDT et al., 2000; WOLFE et al., 2003; CHINNICI et al., 2004; D'ABROSCA et al., 2007; PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; KHANIZADEH et al., 2008; WOJDYLO et al., 2008). Segundo Wojdylo et al. (2008) as diferenças observadas na atividade antioxidante entre as cultivares podem ser preliminarmente atribuídas a seus diferentes conteúdos em compostos fenólicos. Isto pode ser confirmado neste estudo pela relação positiva e significativa observada entre o conteúdo de fenólicos e flavanóis totais e a atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP. Neste estudo, os resultados da atividade antioxidante na fruta inteira, medida pelo método ABTS, foram superiores aos obtidos por Scalzo et al. (2005) ao analisarem cinco cultivares de maçãs colhidas na Itália (89,0 e 258,0 μmol TEAC .100g<sup>-1</sup> peso fresco).

As cultivares Catarina, Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub>, Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> e Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub>, as quais são cultivares resistentes a sarna da macieira, comparadas com as maçãs do grupo Fuji e Golden Delicious, apresentaram maior conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante, embora outras cultivares resistentes a sarna, tais como a

Epagri SJ11 e COOP-24 tenham apresentado resultados semelhantes a cultivares susceptíveis a esta doença. Petkovsek et al. (2007) também observaram que algumas cultivares resistentes a sarna, as quais apresentam uma maior resistência natural, apresentaram maior conteúdo de compostos fenólicos em comparação à cultivares susceptíveis a doença. A razão pela qual cultivares de maçãs resistentes a sarna exibem maior conteúdo de fenólicos e atividade antioxidante mais elevada é provavelmente em função do genótipo, e também devido às macieiras serem expostas a diferentes níveis de estresse nos pomares, tais como doenças, pragas e falta de minerais, os quais induzem o acúmulo de compostos fenólicos (SCALZO et al., 2005; PETKOVSEK et al., 2007).

Os resultados das análises de regressão linear demonstraram que tanto na polpa, quanto na fruta inteira e casca, a atividade antioxidante foi positivamente relacionada à concentração de fenólicos e flavanóis totais, e nenhuma relação foi observada entre antocianinas monoméricas totais na casca e demais parâmetros avaliados. Drogoudi et al. (2008) também reportaram uma positiva correlação entre a atividade antioxidante total medida pelo método DPPH e conteúdo de fenólicos totais na polpa e na casca ( $r = 0,914$  e  $0,977$ , respectivamente). Wojdylo et al. (2008), ao analisarem extratos da fruta inteira de 28 cultivares de maçãs encontraram coeficiente de correlação entre a atividade antioxidante, medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP e o conteúdo de fenólicos totais, de  $0,871$ ,  $0,804$  e  $0,839$ , respectivamente. Estes autores também observaram uma correlação positiva e moderada entre a atividade antioxidante medida pelos três métodos e o conteúdo de procianidinas ( $0,591 < r < 0,690$ ) e concluíram que os flavanóis, incluindo monômeros, dímeros e oligômeros foram os mais importantes compostos que contribuíram para a atividade antioxidante das maçãs analisadas. Em contrapartida, Wolfe et al. (2003) não encontraram qualquer correlação entre a atividade antioxidante e o conteúdo de fenólicos totais na polpa, fruta inteira e casca. Semelhantemente aos nossos resultados, estes mesmos autores não observaram qualquer relação entre a atividade antioxidante e o conteúdo de antocianinas monoméricas totais na casca de quatro cultivares de maçãs. Estes resultados sugerem que outros compostos fenólicos tais como, flavanóis, flavonóis e ácidos fenólicos contribuem significativamente com a atividade antioxidante de todas as partes da fruta. Diferentes métodos de extração e análises, bem como diferentes cultivares de maçãs, conforme já mencionado anteriormente, podem contribuir para a variação nas concentrações de compostos fenólicos e atividade antioxidante e, como

consequência, diferentes graus de correlação podem ser observados.

## 5 CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que a casca e a fruta inteira contêm significativamente maior quantidade de fenólicos e flavanóis totais e maior atividade antioxidante do que quando somente a polpa foi analisada, sugerindo que a remoção da casca da maçã pode induzir a uma significativa perda de nutrientes em todas as cultivares estudadas. Além disso, as cascas são freqüentemente descartadas na elaboração de produtos processados, apesar de claramente possuírem compostos bioativos e elevada atividade antioxidante, o que indica que estes podem ser utilizados para diferentes propósitos na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética. Assim, do ponto de vista nutricional, os resultados deste estudo sugerem que o consumo regular de maçãs com casca deve ser recomendado para maximizar a ingestão dietética de compostos antioxidantes os quais podem trazer benefícios aos consumidores, tais como a redução do risco de doenças cardiovasculares e câncer.

## 6 REFERÊNCIAS

- ARNOUS, A.; MARKIS, D.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavonol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 655-665, 2002.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of the AOAC International**, 18th ed. Maryland: AOAC, 2005.
- AUCLAIR, S.; SILBERBERG, M.; GUEUX, E.; MORAND, C.; MAZUR, A.; MILENKOVIC, D.; SCALBERT, A. Apple polyphenols and fibers attenuate atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 5558-63, 2008.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (frap) as a measure of antioxidant power: the frap assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v.28, p. 25-30. 1995.

- BUDINI, R.; TONELLI, D.; GIROTTI, S. Analysis of total phenols using the prussian blue method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, p. 1236-38, 1980.
- CHINNICI, F.; BENDINI, A.; GAIANI, A.; RIPONI, C. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. golden delicious apples as related to their phenolic composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4684-89, 2004.
- D'ABROSCA, B.; PACIFICO, S.; CEFARELLI, G.; MASTELLONE, C.; FIORENTINO, A. 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar: phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1333-1337, 2007.
- DI PIETRO, P.F.; MEDEIROS, N.I.; VIEIRA, N.I.; FAUSTO, M.A.; BELLÓ-KLEIN, A. Breast cancer in southern Brazil: association with past dietary intake. **Nutrición Hospitalaria**, v. 22, p. 565-72, 2007.
- DROGOUDI, P. D.; MICHAILIDIS, Z.; PANTELIDIS, G. Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 115, p. 149-153, 2008.
- EBERHARDT, M. V.; LEE, C. Y.; LIU, R. H. Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**, v. 405, p. 903-904, 2000.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Unit F1.2.1-13. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-Visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R.E. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: John Wiley, 2001.
- IGLESIAS, I.; ECHEVERRÍA, G.; SORIA, Y. Differences in fruit colour development, anthocyanin content, fruit quality and consumer acceptability of eight 'Gala' apple strains. **Scientia Horticulturae**, v. 119, p. 32-40, 2008.
- KHANIZADEH, S.; TSAO, R.; REKIKI, D.; YANG, R.; CHARLES, M. T.; RUPASINGHE, H. P. V. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 396-401, 2008.
- KO, S. H.; CHOI, S. W.; YE, S. K.; CHO, B. L.; KIM, H. S.; CHUNG, M. H. Comparison of the antioxidant activities of nine different fruits in human plasma. **Journal of Medicinal Food**, v. 8, p.41-46, 2005.
- LATA, B. Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 55, p. 663-671, 2007.
- LATA, B.; TOMALA, K. Apple peel as a contributor to whole fruit quantity of potentially healthful bioactive compounds: cultivar and year implication. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 10795-802, 2007.

- LEA, A. G. H. Cidermaking. In: Lea, A.G.H., Piggott, J.R., (Eds.), **Fermented beverage production**. Blackie and Sons, Glasgow, 1995.
- LIU, R. H.; EBERHARDT, M. V.; LEE, C. Y. Antioxidant and antiproliferative activities of selected New York apple cultivars. **New York Fruit Quarterly**, v. 9, p. 15-17, 2001.
- McGHIE, T. K.; HUNT, M.; BARNET, L. E. Cultivar and growing region determine the antioxidant polyphenolic concentration and composition of apples grown in New Zealand. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 53, p. 3065-70, 2005.
- PETKOVSEK, M. M.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R. Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh). **Scientia Horticulturae**, v. 114, p. 37-44, 2007.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.
- SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, v. 21, p. 207-13, 2005.
- TSAO, R.; YANG, R.; XIE, S.; SOCKOVIE, E.; KHANIZADEH, S. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4989-95, 2005.
- VIEIRA, F. G. K.; BORGES, G. S. C.; COPETTI, C.; AMBONI, R. D. M. C.; DENARDI, F.; FETT, R. Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh) grown in southern Brazil. **Scientia Horticulturae**, v. 122, p. 421-425, 2009.
- WOJDYLO, A.; OSZMIANSKI, J.; LASKOWSKI, P. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 6520-6530, 2008.
- WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 609-14, 2003.
- WU, J.; GAO, H.; ZHAO, L.; LIAO, X.; CHEN, F.; WANG, Z.; HU, X. Chemical compositional characterization of some apple cultivars. **Food Chemistry**, v. 103, p. 88-93, 2007.





**CAPÍTULO 4**  
**COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE**  
**ANTIOXIDANTE DE POLIFENÓIS NA POLPA, FRUTA**  
**INTEIRA E CASCA DE QUINZE CULTIVARES DE MAÇÃS**  
**(*Malus Domestica* Borkh).**

Parte deste trabalho, referente à composição físico-química e atividade antioxidante na fruta inteira, será submetida na forma de artigo para revista International Journal of Food Science & Technology.

Parte deste trabalho, referente à atividade antioxidante na polpa e na casca, será submetida na forma de artigo para revista Food Chemistry.

**COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE  
ANTIOXIDANTE DE POLIFENÓIS NA POLPA, FRUTA  
INTEIRA E CASCA DE QUINZE CULTIVARES DE MAÇÃS  
(*Malus Domestica Borkh*)**

**RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi analisar a composição físico-química de quinze cultivares de maçã colhidas em 2009 no sul do Brasil, e comparar o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante na polpa, fruta inteira e casca destas cultivares. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre as cultivares, em todos os parâmetros de composição química analisados. O conteúdo de matéria seca variou entre 13,71 % (Golden Delicious) e 19,84 % (Catarina), os sólidos solúveis entre 12,2 (Golden Delicious) e 15,3 (Daiane) °Brix, os valores de pH variaram de 2,53 (Braeburn) a 3,89 (Fuji Precoces), o teor de açúcares totais ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) variou de 9,68 (Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> e Jonagolden) a 12,34 (Catarina) e a acidez titulável ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) entre 0,27 (Fuji Precoces) e 0,75 (Braeburn). As concentrações de fenólicos totais, flavanóis totais, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP também diferiram significativamente entre as cultivares e foram maiores na casca, seguidas da fruta inteira e polpa. O conteúdo de fenólicos totais ( $\text{mg EAG} \cdot 100\text{g}^{-1}$  peso fresco) variou entre 120,6 (Fuji Kiku 8) e 210,5 (Daiane) na polpa, 172,5 (Fuji Kiku 8) e 311,6 (Catarina) na fruta inteira e 311,8 (Golden Delicious) e 862,1 (Catarina) na casca. O conteúdo de flavanóis totais ( $\text{mg catequina} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) variou entre 7,2 (Epagri-F P<sub>161</sub>) e 27,3 (Daiane) na polpa, 12,7 (Epagri-F P<sub>161</sub>) e 60,0 (Catarina) na fruta inteira e 22,5 (Epagri-F P<sub>161</sub>) e 161,0 (Catarina) na casca. A cultivar COOP-24 apresentou o maior conteúdo de antocianinas na casca (105,1 mg cianidina 3-galactosídeo  $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ). A polpa, fruta inteira e casca da cultivar Catarina apresentaram a maior atividade antioxidante pelos três métodos, enquanto que a menor atividade antioxidante foi observada nas cultivares Golden Delicious, Fuji Precoces, Fuji Kiku 8 e COOP-24. Houve uma relação positiva entre fenólicos totais e a atividade antioxidante na polpa, fruta inteira e casca ( $R^2 = 0,570$ ; 0,682 e 0,804, respectivamente); entre flavanóis totais e atividade antioxidante na polpa, fruta inteira e casca ( $R^2 = 0,348$ ; 0,716 e 0,582, respectivamente); e entre fenólicos totais e flavanóis totais na polpa, fruta inteira e na casca ( $R^2 = 0,392$ ; 0,621 e 0,634,

respectivamente). Os resultados deste estudo indicam que o genótipo é o principal fator determinante da composição química, especialmente do conteúdo de compostos fenólicos em maçãs.

**Palavras-chave:** maçã, análise físico-química, fenólicos totais, flavanóis, antocianinas, atividade antioxidante.

**PHYSICO-CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT  
ACTIVITY OF POLYPHENOLS IN THE FLESH, WHOLE  
FRUIT AND PEEL OF FIFTEEN APPLE CULTIVARS (*Malus  
Domestica* Borkh)**

**ABSTRACT**

The objectives of this study were to analyse the physico-chemical composition of fifteen apple cultivars harvested in southern Brazil, in the 2009 season, and to compare the their phenolic compounds content and antioxidant activity (AOA) in the flesh, whole fruit and peel. The results showed great quantitative differences in the composition of the apple cultivars. The dry matter varied from 13.71 % (Golden Delicious) to 19.84 % (Catarina), the soluble solids content was between 12.2 (Golden Delicious) and 15.3 (Daiane) °Brix, pH values varied from 2.53 (Braeburn) to 3.89 (Fuji Precoce), the total sugar content (g.100g<sup>-1</sup>) ranged from 9.68 (Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> and Jonagolden) to 12.34 (Catarina) and the titratable acidity content (g.100g<sup>-1</sup>) varied from 0.27 (Fuji Precoce) to 0.75 (Braeburn). Within each cultivar, the total phenolic (TP), total flavanol (TF) and total monomeric anthocyanin (TMA) contents and antioxidant activity measured by ABTS, DPPH and FRAP assay were highest in the peels, followed by the whole fruit and the flesh. TP content (mg GAE .100 g<sup>-1</sup> fresh matter) ranged from 120.6 (Fuji Kiku 8) to 210.5 (Daiane) in the flesh, 172.5 (Fuji Kiku 8) to 311.6 (Catarina) in the whole fruit and 311.8 (Golden Delicious) to 862.1 (Catarina) in the peel. TF content (mg CAE .100 g<sup>-1</sup> fm) varied from 7.2 (Epagri-F P<sub>161</sub>) to 27.3 (Daiane); 12.7 (Epagri-F P<sub>161</sub>) to 60.0 (Catarina); and from 22.5 (Epagri-F P<sub>161</sub>) to 161.0 (Catarina) in the flesh, whole fruit and peel, respectively. COOP-24 peel had the highest TMA content (105.1 mg cy-3-gal .100 g<sup>-1</sup>). The flesh, whole fruit and peel of the Catarina, had the highest AOA while the Golden Delicious, Fuji Precoce, Fuji Kiku 8 and COOP-24 had the lowest AOA in all fruit parts. There was a positive relationship between TP and AOA in the flesh, whole fruit and peel ( $R^2 = 0.570$ ; 0.682 and 0.804, respectively), between TF content and AOA in the flesh, whole fruit and peel ( $R^2 = 0.348$ ; 0.716 and 0.582, respectively); and between TP and TF contents in the flesh, whole fruit and peel ( $R^2 = 0.392$ ; 0.621 and 0.634, respectively) was also observed. The results indicate that the genotype is the main factor determining the chemical composition, especially of bioactive compounds in apples.

**Keywords:** Apple, physico-chemical analysis, total phenolics, Anthocyanins, antioxidant activity.

## 1 INTRODUÇÃO

O consumo de frutas, entre outras de maçã (*Malus domestica* Borkh) tem sido atribuído à prevenção e proteção contra o desenvolvimento de várias DCNT em humanos, principalmente devido ao seu conteúdo em antioxidantes que podem atuar prevenindo o dano oxidativo à macromoléculas (HYSON et al., 2000; KNEKT et al., 2002; BOYER; LIU, 2004; DI PIETRO et al., 2007). Os compostos fenólicos presentes em maçãs são os principais responsáveis pela atividade antioxidante na fruta (LEE et al., 2003; TSAO et al., 2005) uma vez que menos de 0,4% da atividade antioxidante em maçãs é atribuída ao seu conteúdo em ácido ascórbico (EBERHARDT et al., 2000). Recentes estudos têm mostrado que o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante em maçãs variam consideravelmente entre diferentes cultivares e também entre diferentes partes da fruta (PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; KHANIZADEH et al., 2008; WOJDYLO et al., 2008; LECCESE et al., 2009; VIEIRA et al., 2009a; VIEIRA et al., 2009b). Além disso, o conteúdo fenólico em frutas é também regulado por fatores ambientais e pós-colheita, tais como ano de colheita, estágio de maturação, luminosidade, estocagem e processamento (VAN DER SLUIS et al., 2001; LEJA et al., 2003; McGHIE et al., 2005; LATA, 2007). Entretanto, é bem estabelecido que a genética desempenha a principal função no controle da composição química, principalmente dos polifenóis em maçãs (McGHIE et al., 2005; SCALZO et al., 2005; KHANIZADEH et al., 2008). Desta forma, a cultivar da maçã pode substancialmente influenciar o conteúdo de compostos fenólicos, flavanóis, antocianinas e atividade antioxidante (McGHIE et al., 2005; DROGOUDI et al., 2008; LATA et al., 2009; VIEIRA et al., 2009a). Além disso, o conteúdo de polifenóis e a atividade antioxidante é maior na casca comparada à fruta inteira e à polpa de maçã (WOLFE et al., 2003; CHINNICI et al., 2004; D'ABROSCA et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; LECCESE et al., 2009; VIEIRA et al., 2009b). A atividade antioxidante de maçãs tem sido avaliada através de diferentes métodos. As técnicas baseadas no “scavenging” de radicais livres tais como o ABTS [2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-ácido sulfônico] e DPPH [1,1-difenil-2-picrilhidrazila], e a medida do potencial antioxidante redutor férrico (FRAP), são algumas das mais empregadas técnicas, contudo, não existe um consenso sobre um método padrão ouro a ser empregado, sendo indicado o uso de um conjunto de métodos para avaliar a atividade antioxidante de frutas (ROGINSKY; LISSI, 2005).

Vários estudos têm sido conduzidos sobre o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante de diferentes cultivares de maçã colhidas em diversos países (PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; KHANIZADEH et al., 2008; WOJDYLO et al., 2008; LATA et al., 2009; LECCESE et al., 2009) entretanto, pouca atenção tem sido dada à cultivares de maçã colhidas no Brasil (VIEIRA et al., 2009a; VIEIRA et al., 2009b). O Brasil é o terceiro maior produtor de maçãs da América do Sul, responsável por aproximadamente 1,5 % da produção mundial e o estado de Santa Catarina é o maior produtor deste país com 51 % do total da produção (IBGE, 2009). Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi analisar a composição físico-química de quinze cultivares de maçã colhidas no Sul do Brasil e comparar o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante, medida por três diferentes métodos, na polpa, fruta inteira e casca destas cultivares.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Amostras e reagentes**

Quinze cultivares de maçã (15 frutas de cada): Fuji Standard, Fuji Precoce, Fuji Suprema, Fuji Kiku 8, Catarina, Golden Delicious, Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub>, COOP-24, Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub>, Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub>, Gala, Daiane, Jonagolden, Braeburn e Epagri-F P<sub>161</sub> foram obtidas da Estação Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), localizada em São Joaquim, SC, Brasil (latitude 28°17'25", longitude 49°56'56" e altitude 1360 m). Todas as maçãs foram colhidas por pessoal treinado, no estágio de maturação para consumo, na fase de meia estação de colheita, na safra de 2009.

Imediatamente após a colheita as amostras foram transportadas ao Laboratório de Química de Alimentos. Após a amostragem de forma aleatória, as mesmas passaram por um processo de seleção que englobou a retirada de maçãs com pontos pretos ou danos mecânicos, provenientes de batidas e, na sequência foram lavadas, higienizadas e secas. Em seguida, cinco frutas de cada cultivar foram selecionadas aleatoriamente para realização da caracterização química e cinco frutas foram congeladas a -20 °C até o preparo dos extratos para as análises da atividade antioxidante.

Folin-Ciocalteu reagente, (+)-catequina, 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS), 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (Trolox), 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), 2,4,6-tri (2-pyridil)-s-triazina (TPTZ) e p-

deimetilaminocinamaldeído (DMACA) foram obtidos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Ácido gálico, ácido cítrico, persulfato de potássio, carbonato de sódio e acetato de sódio foram obtidos da Vetec (Rio de Janeiro, Brazil). Todos os outros reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico (PA).

## 2.2 Caracterização físico-química

Inicialmente as frutas inteiras (polpa e casca, sem sementes) foram trituradas em processador de alimentos (modelo Ika A49, Brasil) e posteriormente analisadas em triplicata quanto ao teor de matéria seca, sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável e açúcares totais de acordo com os métodos recomendados pela *Association of Official Analytical Chemists* 934.06, 932.12, 981.12, 942.15 e 974.06, respectivamente (AOAC, 2005). A relação açúcar/ácido também foi determinada. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

## 2.3 Preparo dos extratos

Para a obtenção dos extratos, as cinco frutas congeladas de cada cultivar foram inicialmente cortadas ao meio e o endocarpo (centro) foi retirado com um descaroçador. Em seguida, uma metade de cada uma das frutas (epicarpo e mesocarpo juntos) foi triturada em processador de alimentos (modelo Ika A49, Brasil). A outra metade de cada uma das frutas foi descascada com um descascador de legumes, para a separação da polpa (mesocarpo) e da casca (epicarpo) e em seguida cada uma destas partes foi triturada separadamente. Neste trabalho a polpa (mesocarpo) constituiu a porção comestível das frutas sem a casca (epicarpo). A fruta inteira constituiu a porção comestível da fruta com o conteúdo de polpa e casca mantidas na mesma proporção que em uma maçã inteira. As cascas foram as partes da maçã removidas através de um descascador de legumes e como uma fina camada de polpa permaneceu aderida à casca, a casca pode ser considerada como a zona epidérmica das maçãs.

Dez gramas (10 g) de fruta inteira, polpa ou casca trituradas, foram extraídas a temperatura ambiente usando ultra-som USC-1400 (Unique, São Paulo, Brasil). A extração foi realizada com 200 mL de solução de acetona 80% por 15 minutos (min). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1000 x g por 10 min a 5°C (Fanen 280R, São Paulo, Brasil) e o sobrenadante imediatamente utilizado na determinação do conteúdo de fenólicos e flavanóis totais e na



determinação da atividade antioxidante. Todos os extratos foram preparados em triplicata.

## **2.4 Conteúdo de fenólicos e flavanóis totais**

O conteúdo de fenólicos totais dos extratos foi determinado usando um método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu modificado (BUDINI et al., 1980) conforme previamente descrito no Capítulo 2. Os resultados foram expressos em miligramas (mg) de equivalentes a ácido gálico (EAG) .  $100\text{g}^{-1}$  de peso fresco (PF).

A determinação do conteúdo de flavanóis totais foi realizada de acordo com o método DMACA modificado descrito por Arnous et al. (2002) conforme previamente descrito no Capítulo 3. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes a catequina .  $100\text{g}^{-1}$  PF.

## **2.5 Conteúdo de antocianinas monoméricas totais**

O conteúdo de antocianinas monoméricas totais foi determinado somente na casca das maçãs pelo método da diferença de pH (GIUSTI; WROSTALD, 2001), conforme previamente descrito no Capítulo 2. Os resultados foram expressos em mg de cianidina 3-galactosídeo .  $100\text{g}^{-1}$  de PF.

## **2.6 Atividade antioxidante**

A determinação da atividade antioxidante dos extratos acetônicos foi avaliada de acordo com os métodos ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico), DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazila) e FRAP (potencial antioxidante redutor férrico). Todos os resultados da atividade antioxidante foram expressos em termos de atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC,  $\mu\text{Mol}$  de equivalentes trolox .  $100\text{g}^{-1}$  de peso fresco).

O método ABTS utilizado foi o descrito por Re et al. (1999) conforme descrito no Capítulo 2. O método DPPH foi aplicado de acordo com a técnica desenvolvida por Brand-Williams et al. (1995) conforme descrito no Capítulo 3. Para determinar o poder redutor aplicou-se o método FRAP previamente descrito por Benzie e Strain (1996) conforme descrito no Capítulo 3.

## 2.7 Análises estatísticas

Todas as análises foram efetuadas em triplicata. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio-padrão. As diferenças entre as médias foram avaliadas através da análise de variância (ANOVA) univariada seguida de teste de Tukey. A relação entre a atividade antioxidante e o conteúdo de compostos fenólicos foi avaliado através da análise de regressão linear simples. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa “STATISTICA 7”, admitindo nível de significância de 5% ( $p < 0.05$ ).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Análises físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas das quinze cultivares de maçãs estão apresentados na Tabela 1. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre os valores médios de matéria seca, sólidos solúveis totais, pH, açúcares totais e acidez titulável. A matéria seca variou entre 13,71 % (Golden Delicious) e 19,84 % (Fuji Suprema), resultados semelhantes aos reportados por Lata (2007), que encontrou valores de matéria seca entre 13,6 e 19,3 % em dezenove cultivares de maçãs colhidas no estado de Varsóvia na Polônia.

Em relação ao conteúdo de sólidos solúveis totais, foram observados valores máximos de 15,3 (Daiane) e mínimos de 12,2 (Golden Delicious) °Brix, semelhante ao previamente reportado por Drogoudi et al. (2008) e Vieira et al. (2009a). Os valores de pH oscilaram entre 2,53 (Braeburn) e 3,89 (Fuji Precoces). O conteúdo de açúcares totais variou entre 9,68 (Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> e Jonagold) e 12,34 (Catarina) g.100g<sup>-1</sup>. A acidez titulável apresentou valores que variaram entre 0,27 (Fuji Precoces) e 0,75 (Braeburn) g.100g<sup>-1</sup>. Semelhantes variações quanto aos valores de pH, açúcares totais e acidez titulável em diferentes cultivares de maçãs foram observadas em outros estudos prévios (LATA, 2007; WU et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; VIEIRA et al., 2009a).

**Tabela 1** Matéria seca, sólidos solúveis totais (SST), pH, açúcares totais, acidez titulável e relação açúcar/ácido de quinze cultivares de maçãs.

Cultivar	Matéria Seca (%)	SST (°Brix)	pH	Açúcares totais (g.100g <sup>-1</sup> )	Acidez titulável (g.100g <sup>-1</sup> )	Açúcar/Ácido
Fuji	17,22±		3,53±			
Standard	0,18 <sup>de</sup>	13,80 <sup>c</sup>	0,00 <sup>c</sup>	12,05±0,24 <sup>a</sup>	0,34±0,00 <sup>gh</sup>	34,52
Fuji	14,22±		3,89±			
Precoce	0,06 <sup>h</sup>	13,00 <sup>de</sup>	0,00 <sup>a</sup>	10,45±0,21 <sup>bcd</sup>	0,27±0,00 <sup>h</sup>	37,78
Fuji	19,84±		3,05±			
Suprema	0,18 <sup>a</sup>	13,75 <sup>c</sup>	0,00 <sup>f</sup>	11,86±0,27 <sup>a</sup>	0,34±0,03 <sup>gh</sup>	34,58
Fuji	16,35±		3,05±			
Kiku 8	0,66 <sup>fg</sup>	12,90 <sup>e</sup>	0,00 <sup>f</sup>	10,24±0,35 <sup>bcd</sup>	0,28±0,00 <sup>h</sup>	35,89
Catarina	19,07±		3,22±			
	0,17 <sup>ab</sup>	15,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>d</sup>	12,34±0,19 <sup>a</sup>	0,46±0,02 <sup>bcd</sup>	26,13
Golden	13,71		3,53±			
Delicious	±0,40 <sup>h</sup>	12,20 <sup>f</sup>	0,00 <sup>c</sup>	10,32±	0,45±0,00 <sup>def</sup>	22,94
Epagri-	18,54±		2,94±			
F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	0,18 <sup>bc</sup>	13,20 <sup>d</sup>	0,00 <sup>g</sup>	9,68±0,23 <sup>d</sup>	0,52±0,01 <sup>bcd</sup>	18,38
COOP-	15,83±		2,84±			
24	0,33 <sup>g</sup>	12,80 <sup>e</sup>	0,00 <sup>hi</sup>	9,93±0,09 <sup>cd</sup>	0,53±0,01 <sup>bc</sup>	18,49
Epagri-	15,79±		2,85±			
F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	0,11 <sup>g</sup>	13,30 <sup>d</sup>	0,00 <sup>h</sup>	10,74±0,11 <sup>b</sup>	0,57±0,03 <sup>b</sup>	18,76
Epagri-	17,51±		3,02±			
F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	0,27 <sup>de</sup>	12,40 <sup>f</sup>	0,00 <sup>f</sup>	10,44±0,39 <sup>bc</sup>	0,41±0,01 <sup>fg</sup>	25,37
Epagri-F	17,73±		3,04±			
P <sub>161</sub>	0,25 <sup>cde</sup>	12,80 <sup>e</sup>	0,00 <sup>f</sup>	10,48±0,40 <sup>bc</sup>	0,47±0,01 <sup>cde</sup>	22,09
Gala	14,55		3,80±			
	±0,17 <sup>h</sup>	13,05 <sup>de</sup>	0,00 <sup>b</sup>	10,93±0,12 <sup>b</sup>	0,32±0,00 <sup>h</sup>	33,49
Braeburn	17,00±		2,53±			
	0,34 <sup>ef</sup>	13,20 <sup>d</sup>	0,00 <sup>j</sup>	10,42±0,28 <sup>bcd</sup>	0,75±0,00 <sup>a</sup>	13,81
Daiane	17,97±		3,15±			
	0,07 <sup>cd</sup>	15,30 <sup>a</sup>	0,00 <sup>e</sup>	12,18±0,24 <sup>a</sup>	0,43±0,00 <sup>ef</sup>	28,32
Jonagolden	14,31		2,77±			
	±0,08 <sup>h</sup>	12,80 <sup>e</sup>	0,00 <sup>i</sup>	9,68±0,16 <sup>d</sup>	0,43±0,03 <sup>ef</sup>	22,51

Resultados são expressos como média ± Desvio Padrão de três repetições em triplicata.

Medidas seguidas pelas mesmas letras, na vertical, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

A relação açúcar/ácido das cultivares variou entre 13,81 (Braeburn) e 37,78 (Fuji Precoce) (Tabela 1). A relação açúcar/ácido de maçãs é considerada como um indicador tanto para uso industrial quanto para consumo *in natura*. Esta relação tem o valor 20 como delimitante para as duas opções, sendo que cultivares com valores abaixo de 20 apresentam interesse industrial e acima deste valor, as frutas são adequadas ao consumo *in natura* (LEA, 1995). Neste estudo, as cultivares Braeburn, Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub>, COOP-24 e Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> apresentaram relação açúcar/ácido abaixo de 20, sendo, portanto classificadas como frutas ácidas e indicadas para o processamento e produção de cidras e sucos. Cabe salientar que as demais cultivares apresentaram relação açúcar/acidez acima de 20, e isto indica que estes genótipos são adequados para o consumo *in natura*.

### 3.2 Fenólicos, flavanóis e antocianinas monoméricas totais

Como pode ser observado nas Tabelas 2 e 3, o conteúdo de fenólicos e flavanóis totais em todas as cultivares foi significativamente maior na casca do que na fruta inteira e na polpa, e o conteúdo na fruta inteira foi significativamente maior do que na polpa ( $p < 0,05$ ). Além disso, grande variabilidade, em relação ao conteúdo de fenólicos totais e flavanóis totais, foram observadas entre as cultivares analisadas e as diferenças foram estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Na polpa, a cultivar Daiane ( $210,56 \pm 2,47$  mg EAG  $\cdot 100$  g<sup>-1</sup>) apresentou significativamente o maior conteúdo de fenólicos totais, seguida pelas cultivares Catarina e Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> ( $201,01 \pm 3,87$  e  $193,67 \pm 8,09$  mg EAG  $100$  g<sup>-1</sup>, respectivamente). A polpa da cultivar Fuji Kiku 8 ( $120,63 \pm 2,53$  mg EAG  $100$  g<sup>-1</sup>) apresentou significativamente o menor teor de fenólicos totais, seguida pelas cultivares COOP-24 e Golden Delicious ( $136,01 \pm 3,80$  e  $141,45 \pm 4,00$  mg EAG  $100$  g<sup>-1</sup>, respectivamente). Na fruta inteira, o maior teor de fenólicos totais foi observado nas cultivares Catarina, Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> e Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> ( $311,65 \pm 6,24$ ;  $303,69 \pm 8,11$  e  $293,47 \pm 6,71$  mg EAG  $100$  g<sup>-1</sup>, respectivamente), enquanto que os menores conteúdos foram observados nas cultivares Fuji Kiku 8, Fuji Precoce e Golden Delicious ( $172,58 \pm 4,09$ ;  $188,58 \pm 3,51$  e  $199,39 \pm 3,56$  mg EAG  $\cdot 100$  g<sup>-1</sup>, respectivamente). Na casca, o conteúdo de fenólicos totais também apresentou grande variação entre as cultivares, sendo que a cultivar Catarina ( $862,13 \pm 36,63$  mg EAG  $\cdot 100$  g<sup>-1</sup>), apresentou significativamente o maior conteúdo de fenólicos totais, seguida pelas cultivares Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> e Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> ( $739,57 \pm 0,94$  e  $724,76 \pm 3,29$  mg

EAG .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente), enquanto que o menor conteúdo de fenólicos totais na casca foi encontrado nas cascas das cultivares Golden Delicious e Fuji Precoce (311,82±16,10 e 319,04±7,21 mg EAG .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente) (Tabela 2).

**Tabela 2** Fenólicos totais (mg EAG .100g<sup>-1</sup>) na polpa, fruta inteira e casca de quinze cultivares de maçãs.

Cultivar	Polpa	Fruta inteira	Casca
Fuji Standard	181,14±6,83 <sup>c, CD</sup>	226,52±0,96 <sup>b, FG</sup>	516,49±4,32 <sup>a, E</sup>
Fuji Precoce	161,86±0,90 <sup>c, F</sup>	188,58±3,51 <sup>b, IJ</sup>	319,04±7,21 <sup>a, G</sup>
Fuji Suprema	176,98±3,57 <sup>c, DE</sup>	276,83±3,99 <sup>b, BC</sup>	674,23±11,35 <sup>a, CD</sup>
Fuji Kiku 8	120,63±2,53 <sup>c, H</sup>	172,58±4,09 <sup>b, J</sup>	439,93±30,51 <sup>a, F</sup>
Catarina	201,01±3,87 <sup>c, AB</sup>	311,65±6,24 <sup>b, A</sup>	862,13±36,63 <sup>a, A</sup>
Golden Delicious	141,45±4,00 <sup>c, G</sup>	199,39±3,56 <sup>b, HI</sup>	311,82±16,10 <sup>a, G</sup>
Epagri-F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	162,25±1,68 <sup>c, F</sup>	293,47±6,71 <sup>b, AB</sup>	724,76±3,29 <sup>a, BC</sup>
COOP-24	136,01±3,80 <sup>c, G</sup>	250,87±6,24 <sup>b, DE</sup>	672,07±15,34 <sup>a, CD</sup>
Epagri-F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	193,67±8,09 <sup>c, BC</sup>	303,69±8,11 <sup>b, A</sup>	739,57±0,94 <sup>a, B</sup>
Epagri-F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	164,40±5,79 <sup>c, EF</sup>	235,52±12,31 <sup>b, EFG</sup>	632,63±26,21 <sup>a, D</sup>
Epagri-F P <sub>161</sub>	180,38±2,41 <sup>c, D</sup>	223,72±10,32 <sup>b, FG</sup>	467,89±9,01 <sup>a, EF</sup>
Gala	183,83±5,12 <sup>c, CD</sup>	255,76±14,01 <sup>b, CDE</sup>	435,88±12,91 <sup>a, F</sup>
Braeburn	148,57±2,15 <sup>c, G</sup>	241,21±5,91 <sup>b, EF</sup>	631,29±22,80 <sup>a, D</sup>
Daiane	210,56±2,47 <sup>c, A</sup>	272,58±8,65 <sup>b, BCD</sup>	501,01±26,10 <sup>a, E</sup>
Jonagolden	146,97±3,62 <sup>c, G</sup>	214,40±4,11 <sup>b, GH</sup>	445,05±6,57 <sup>a, F</sup>

<sup>a-c:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras minúsculas, na horizontal, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as partes da fruta de cada cultivar.

<sup>A-G:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras maiúsculas, na vertical, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as cultivares.

Em relação ao conteúdo de flavanóis totais, na polpa, as cultivares Daiane e Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> (27,37±0,62 e 27,10±1,04 mg catequina .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente), seguidas pelas cultivares Catarina e Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> (24,28±0,94 e 23,65±0,86 mg catequina .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente), apresentaram os maiores conteúdos de flavanóis totais. A polpa da cultivar Epagri-F P<sub>161</sub> (7,21±0,22 mg catequina .100 g<sup>-1</sup>) apresentou significativamente o menor teor de flavanóis totais, seguida pelas cultivares Fuji Kiku 8 e Fuji Precoce (12,06±0,08 e 12,85±0,26 mg catequina .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente). Na fruta inteira, o

maior teor de flavanóis totais foi observado na cultivar Catarina ( $60,08 \pm 0,70$  mg catequina  $\cdot 100$  g<sup>-1</sup>), seguida pelas cultivares Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> e Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> ( $50,84 \pm 0,61$  e  $37,64 \pm 2,30$  mg catequina  $\cdot 100$  g<sup>-1</sup>, respectivamente), enquanto que o menor conteúdo foi observado na cultivar Epagri-F P<sub>161</sub> ( $12,71 \pm 0,76$  mg catequina  $\cdot 100$  g<sup>-1</sup>), seguida pelas cultivares Golden Delicious e Fuji Kiku 8 ( $17,44 \pm 0,51$  e  $20,49 \pm 0,50$  mg catequina  $\cdot 100$  g<sup>-1</sup>, respectivamente). De acordo com o observado na fruta inteira, na casca, o conteúdo de flavanóis totais foi significativamente maior na cultivar Catarina ( $161,02 \pm 1,59$  mg catequina  $\cdot 100$  g<sup>-1</sup>), e de acordo com observado na polpa e na fruta inteira, o menor conteúdo de flavanóis totais na casca foi o encontrado na Epagri-F P<sub>161</sub> ( $22,52 \pm 0,38$  mg catequina  $\cdot 100$  g<sup>-1</sup>) (Tabela 3).

Este estudo mostrou que a casca da maçã e a fruta inteira apresentaram, respectivamente, de 2 a 5 vezes e de 1,2 a 1,9 vezes maior quantidade de fenólicos totais e de 2,2 a 6,8 e de 1,2 a 2,5 vezes maior conteúdo de flavanóis totais do que a polpa. Nossos resultados estão de acordo com os resultados de outros estudos prévios realizados com diversas cultivares de maçã, os quais mostraram que a casca é a parte da fruta com o conteúdo de compostos bioativos mais elevada (GUYOT et al., 2002; McGHIE et al., 2005; PETKOVSEK et al., 2007; KHANIZADEH et al., 2008; LECCESE et al., 2009; VIEIRA et al., 2009b). Petkovsek et al. (2007) reportaram que essas diferenças quantitativas entre as partes da fruta são principalmente em função da presença dos glicosídeos de flavonóis, catequina e do ácido clorogênico na casca. O conteúdo de fenólicos totais e flavanóis totais na casca, polpa e fruta inteira das cultivares de maçãs estudadas são comparáveis às variações observadas nos estudos prévios (WOLFE et al., 2003; PETKOVSEK et al., 2007; KHANIZADEH et al., 2008; VIEIRA et al., 2009b). McGhie et al. (2005) demonstraram que o local de cultivo influencia a composição de compostos fenólicos em maçãs, mas quantitativamente estas diferenças foram dependente da cultivar. Deste modo, considerando que todas as quinze cultivares de maçã usadas neste estudo foram colhidas no mesmo local, utilizando práticas agrícolas semelhantes, a variação no conteúdo de compostos fenólicos demonstra que a variabilidade genética provoca diferenças na biosíntese de produtos do metabolismo secundário nestas cultivares de maçãs selecionadas.

**Tabela 3** Flavanóis totais (mg catequina .100g<sup>-1</sup>) na polpa, fruta inteira e casca de quinze cultivares de maçãs.

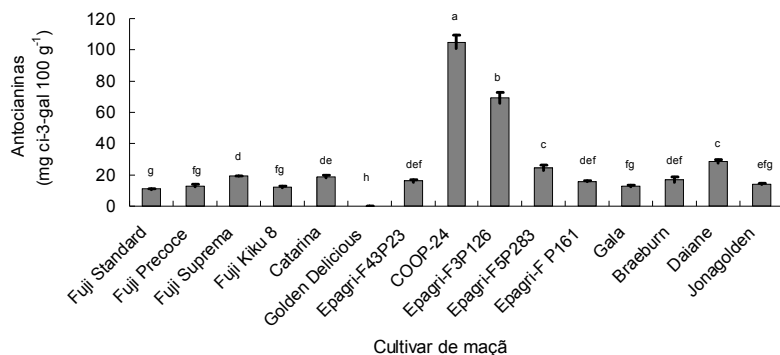
Cultivar	Polpa	Fruta inteira	Casca
Fuji Standard	17,40±0,63 <sup>c, DE</sup>	28,50±0,20 <sup>b, EF</sup>	63,62±1,56 <sup>a, EF</sup>
Fuji Precoce	12,85±0,26 <sup>c, GH</sup>	27,71±0,97 <sup>b, EF</sup>	65,85±0,68 <sup>a, E</sup>
Fuji Suprema	21,01±0,52 <sup>c, C</sup>	29,96±0,15 <sup>b, DE</sup>	101,00±1,23 <sup>a, C</sup>
Fuji Kiku 8	12,06±0,08 <sup>c, H</sup>	20,49±0,50 <sup>b, H</sup>	61,36±0,94 <sup>a, EF</sup>
Catarina	24,28±0,94 <sup>c, B</sup>	60,08±0,70 <sup>b, A</sup>	161,02±1,59 <sup>a, A</sup>
Golden			
Delicious	14,51±0,21 <sup>c, FG</sup>	17,44±0,51 <sup>b, I</sup>	58,77±0,70 <sup>a, F</sup>
Epagri-F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	23,65±0,86 <sup>c, B</sup>	37,64±2,30 <sup>b, C</sup>	144,46±2,56 <sup>a, B</sup>
COOP-24	14,99±0,50 <sup>c, F</sup>	25,29±0,61 <sup>b, FG</sup>	78,04±2,29 <sup>a, D</sup>
Epagri-F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	27,10±1,04 <sup>c, A</sup>	50,84±0,61 <sup>b, B</sup>	104,52±4,31 <sup>a, C</sup>
Epagri-F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	16,15±0,26 <sup>c, EF</sup>	24,70±0,30 <sup>b, G</sup>	77,73±2,45 <sup>a, D</sup>
Epagri-F P <sub>161</sub>	7,21±0,22 <sup>c, I</sup>	12,71±0,76 <sup>b, J</sup>	22,52±0,38 <sup>a, G</sup>
Gala	18,91±0,22 <sup>c, D</sup>	29,77±0,79 <sup>b, DE</sup>	65,08±1,58 <sup>a, EF</sup>
Braeburn	16,91±0,44 <sup>c, E</sup>	27,62±0,29 <sup>b, EF</sup>	74,31±4,80 <sup>a, D</sup>
Daiane	27,37±0,62 <sup>c, A</sup>	36,54±0,39 <sup>b, C</sup>	63,49±2,28 <sup>a, EF</sup>
Jonagolden	15,83±0,19 <sup>c, EF</sup>	30,70±0,31 <sup>b, D</sup>	61,51±1,19 <sup>a, EF</sup>

<sup>a-c:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras minúsculas, na horizontal, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as partes da fruta de cada cultivar.

<sup>A-G:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras maiúsculas, na vertical, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as cultivares.

Varição estatisticamente significativa em termos de conteúdo de antocianinas monoméricas totais (AMT) na casca foi observada entre as cultivares. A casca das cultivares COOP-24 e Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> apresentaram os maiores conteúdos de AMT (105,12±4,60 e 69,38±3,38 mg cianidina 3-galactosídeo .100 g<sup>-1</sup>, respectivamente), sendo estas duas cultivares de frutos com coloração da epiderme vermelho sólida. Nas cascas dos frutos da cultivar Golden Delicious cuja cor da epiderme é verde-amarelada, não foram detectadas AMT. Este resultado foi consistente com estudos prévios realizados com maçãs da cultivar Golden Delicious colhidas em diferentes países (WOLFE et al., 2003; LATA, 2007; WODJYLO et al., 2008). Os menores conteúdos de AMT foram observados na casca das cultivares Fuji Standard, Fuji Kiku 8, Gala, Fuji Precoce e Jonagolden (10,80±0,42; 12,02±0,65; 12,91±0,40; 12,93±0,82 e 14,08±0,39 mg cianidina 3-galactosídeo 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente) (Figura 1). Wolfe et al. (2003) encontraram menores

valores de antocianinas totais (2,1 a 26,8 mg ci-3-glicosídeo 100 g<sup>-1</sup> fm) na casca de três cultivares comparados aos nossos resultados. Neste estudo, as diferenças no conteúdo de antocianinas na casca de maçãs podem ser atribuídas ao genótipo da fruta e à combinação de baixa temperatura durante a noite e elevados períodos de horas de sol durante o amadurecimento da fruta (WOJDYLO et al., 2008).



**Figura 1** Antocianinas monoméricas totais (mg cianidina-3-galactosídeo 100 g<sup>-1</sup>) na casca de quinze cultivares de maçã.

a-g: Medidas seguidas por diferentes letras maiúsculas, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

### 3.3 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante, analisada pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP, dos extratos acetônicos da polpa, fruta inteira e casca estão apresentados nas Tabelas 4, 5 e 6. De acordo com o observado na análise de fenólicos e flavanóis totais, em todas as cultivares, a atividade antioxidante, analisada pelos três métodos, foi significativamente maior na casca do que na fruta inteira e na polpa, e o conteúdo na fruta inteira foi significativamente maior do que na polpa ( $p < 0,05$ ).

Entre as cultivares, na comparação de cada uma das partes das frutas também foram observadas diferenças estatísticas significantes na atividade antioxidante, pelos três métodos. Na polpa, as cultivares Catarina, Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> e Daiane apresentaram a maior atividade antioxidante, pelos três métodos, enquanto que as cultivares Golden Delicious, COOP-24 e Fuji Kiku 8 apresentaram menor atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH e as cultivares COOP-24, Fuji Kiku 8 e Epagri-F<sub>5</sub>P<sub>283</sub> pela técnica do FRAP. Na fruta inteira e na



casca, as cultivares Catarina, Epagri-F<sub>43</sub>P<sub>23</sub> e Epagri-F<sub>3</sub>P<sub>126</sub> apresentaram as maiores atividades antioxidantes pelos três métodos, enquanto que as cultivares Fuji Precoce e Golden Delicious apresentaram a menor atividade antioxidante pelos três métodos, exceto para os extratos da fruta inteira analisados pelo método FRAP em que as cultivares Fuji Kiku 8 e Fuji Precoce apresentaram os menores valores (Tabelas 4, 5 e 6).

A atividade antioxidante na casca e na fruta inteira foram, respectivamente, de 2,2 a 8,0 e 1,2 a 2,6 vezes maior do que os respectivos valores observados na polpa. Nossos resultados foram consistentes com estudos prévios (CHINNICI et al., 2004; TSAO et al., 2005; KHANIZADEH et al., 2008; WOJDYLO et al., 2008; VIEIRA et al., 2009b). Khanizadeh et al. (2008), utilizando o método FRAP, demonstraram que a maçã apresenta elevada atividade antioxidante, e que os valores variam entre as cultivares de maçã e as partes da fruta. Semelhante aos nossos resultados, Leccese et al. (2009) reportaram valores de atividade antioxidante, medida pelo método ABTS variando entre 350 e 600 e entre 1750 e 4100  $\mu\text{Mol TEAC} \cdot 100\text{g}^{-1}$  de peso fresco na polpa e casca de maçãs, respectivamente. Chinnici et al. (2004) demonstraram valores de atividade antioxidante, medida pelo método DPPH na casca de maçãs cerca de 2,5 vezes maior do que os respectivos valores na polpa. Petkovsek et al. (2007) encontraram valores para a atividade antioxidante, medida pelo método DPPH, na casca de maçãs entre 2 e 5 vezes maior do que na polpa. Drogoudi et al. (2008) demonstraram que a casca de maçã exibiu entre 1,5 e 9,2 vezes atividade antioxidante mais elevada comparada com as respectivas polpas, também medida pelo método DPPH. Pequenas diferenças entre os resultados observados neste trabalho e dos estudos prévios podem ser atribuídas à diferentes cultivares de maçãs usadas nos experimentos, diferentes locais de cultivo e à diferentes métodos de extração da amostra empregados.

**Tabela 4** Atividade antioxidante (método ABTS,  $\mu\text{Mol TEAC} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) na polpa, fruta inteira e casca de quinze cultivares de maçã.

Cultivar	Polpa	Fruta inteira	Casca
Fuji Standard	534,73 $\pm$ 12,18 <sup>c, F</sup>	845,31 $\pm$ 12,97 <sup>b, G</sup>	1976,57 $\pm$ 31,27 <sup>a, I</sup>
Fuji Precoce	493,01 $\pm$ 12,10 <sup>c, G</sup>	648,29 $\pm$ 9,27 <sup>b, J</sup>	1154,40 $\pm$ 17,89 <sup>a, I</sup>
Fuji Suprema	675,80 $\pm$ 11,13 <sup>c, I</sup>	1039,20 $\pm$ 16,19 <sup>b, E</sup>	3502,53 $\pm$ 26,44 <sup>a, I</sup>
Fuji Kiku 8	476,32 $\pm$ 18,48 <sup>c, F</sup>	775,45 $\pm$ 19,98 <sup>b, H</sup>	1989,85 $\pm$ 25,84 <sup>a, I</sup>
Catarina	955,43 $\pm$ 8,96 <sup>c, A</sup>	1622,45 $\pm$ 11,70 <sup>b, A</sup>	4916,29 $\pm$ 25,55 <sup>a, I</sup>
Golden			
Delicious	396,37 $\pm$ 7,40 <sup>c, I</sup>	704,70 $\pm$ 18,23 <sup>b, I</sup>	1098,54 $\pm$ 12,90 <sup>a, I</sup>
Epagri-F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	548,23 $\pm$ 12,66 <sup>c, E</sup>	1191,63 $\pm$ 13,78 <sup>b, C</sup>	3506,12 $\pm$ 31,79 <sup>a, I</sup>
COOP-24	473,50 $\pm$ 14,14 <sup>c, F</sup>	878,81 $\pm$ 14,82 <sup>b, G</sup>	3272,56 $\pm$ 32,81 <sup>a, I</sup>
Epagri-F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	778,37 $\pm$ 18,56 <sup>c, E</sup>	1320,94 $\pm$ 22,38 <sup>b, B</sup>	3651,11 $\pm$ 29,89 <sup>a, I</sup>
Epagri-F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	693,40 $\pm$ 7,72 <sup>c, CE</sup>	1097,71 $\pm$ 16,59 <sup>b, D</sup>	3273,11 $\pm$ 19,81 <sup>a, I</sup>
Epagri-F P <sub>161</sub>	582,69 $\pm$ 8,08 <sup>c, E</sup>	848,76 $\pm$ 11,70 <sup>b, G</sup>	1894,89 $\pm$ 21,02 <sup>a, I</sup>
Gala	665,21 $\pm$ 16,06 <sup>c, I</sup>	951,23 $\pm$ 9,98 <sup>b, F</sup>	1474,05 $\pm$ 25,08 <sup>a, I</sup>
Braeburn	516,56 $\pm$ 16,32 <sup>c, F</sup>	828,48 $\pm$ 22,84 <sup>b, G</sup>	2866,15 $\pm$ 15,48 <sup>a, I</sup>
Daiane	730,07 $\pm$ 4,77 <sup>c, C</sup>	1122,78 $\pm$ 24,70 <sup>b, D</sup>	3454,36 $\pm$ 15,78 <sup>a, I</sup>
Jonagolden	586,77 $\pm$ 17,18 <sup>c, E</sup>	836,46 $\pm$ 16,62 <sup>b, G</sup>	2334,26 $\pm$ 21,45 <sup>a, I</sup>

<sup>a-c</sup>: Medidas seguidas por diferentes letras minúsculas, na horizontal, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as partes da fruta de cada cultivar.

<sup>A-G</sup>: Medidas seguidas por diferentes letras maiúsculas, na vertical, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as cultivares.

**Tabela 5** Atividade antioxidante (método DPPH,  $\mu\text{Mol TEAC} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) na polpa, fruta inteira e casca de quinze cultivares de maçã.

Cultivar	Polpa	Fruta inteira	Casca
Fuji Standard	489,37 $\pm$ 3,80 <sup>c, EF</sup>	673,88 $\pm$ 3,79 <sup>b, FGH</sup>	1853,64 $\pm$ 20,80 <sup>a, H</sup>
Fuji Precoce	518,51 $\pm$ 15,29 <sup>c, E</sup>	647,51 $\pm$ 5,33 <sup>b, H</sup>	1125,60 $\pm$ 8,99 <sup>a, K</sup>
Fuji Suprema	628,65 $\pm$ 7,74 <sup>c, CD</sup>	969,91 $\pm$ 14,67 <sup>b, D</sup>	3442,01 $\pm$ 14,07 <sup>a, C</sup>
Fuji Kiku 8	438,09 $\pm$ 10,58 <sup>c, GH</sup>	660,87 $\pm$ 10,33 <sup>b, GH</sup>	1810,88 $\pm$ 23,83 <sup>a, HI</sup>
Catarina	948,45 $\pm$ 22,81 <sup>c, A</sup>	1609,48 $\pm$ 8,07 <sup>b, A</sup>	4295,23 $\pm$ 28,22 <sup>a, A</sup>
Golden			
Delicious	393,57 $\pm$ 5,13 <sup>c, HI</sup>	638,23 $\pm$ 19,30 <sup>b, H</sup>	1016,97 $\pm$ 16,67 <sup>a, K</sup>
Epagri-F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	498,18 $\pm$ 5,54 <sup>c, EF</sup>	1113,91 $\pm$ 33,41 <sup>b, C</sup>	3529,59 $\pm$ 21,27 <sup>a, BC</sup>
COOP-24	369,33 $\pm$ 2,54 <sup>c, I</sup>	730,66 $\pm$ 40,69 <sup>b, FG</sup>	3093,44 $\pm$ 10,22 <sup>a, E</sup>
Epagri-F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	669,84 $\pm$ 32,29 <sup>c, BC</sup>	1194,80 $\pm$ 13,01 <sup>b, B</sup>	3554,37 $\pm$ 14,08 <sup>a, B</sup>
Epagri-F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	647,08 $\pm$ 18,06 <sup>c, BCD</sup>	1074,92 $\pm$ 50,44 <sup>b, C</sup>	3218,32 $\pm$ 17,75 <sup>a, D</sup>
Epagri-F P <sub>161</sub>	524,44 $\pm$ 19,11 <sup>c, E</sup>	748,78 $\pm$ 18,66 <sup>b, F</sup>	1711,40 $\pm$ 8,02 <sup>a, I</sup>
Gala	651,36 $\pm$ 7,90 <sup>c, BCD</sup>	840,24 $\pm$ 20,93 <sup>b, E</sup>	1435,95 $\pm$ 12,35 <sup>a, J</sup>
Braeburn	452,92 $\pm$ 20,76 <sup>c, FG</sup>	692,84 $\pm$ 41,26 <sup>b, FGH</sup>	2780,71 $\pm$ 92,84 <sup>a, F</sup>
Daiane	693,05 $\pm$ 19,78 <sup>c, B</sup>	942,59 $\pm$ 22,41 <sup>b, D</sup>	3247,14 $\pm$ 13,84 <sup>a, D</sup>
Jonagolden	609,06 $\pm$ 8,72 <sup>c, D</sup>	742,20 $\pm$ 25,09 <sup>b, F</sup>	2159,10 $\pm$ 89,92 <sup>a, G</sup>

<sup>a-c:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras minúsculas, na horizontal, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as partes da fruta de cada cultivar.

<sup>A-G:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras maiúsculas, na vertical, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre as cultivares.

**Tabela 6** Atividade antioxidante (método FRAP,  $\mu\text{Mol TEAC} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) na polpa, fruta inteira e casca de quinze cultivares de maçã.

Cultivar	Polpa	Fruta inteira	Casca
Fuji Standard	248,49 $\pm$ 8,81 <sup>c, BC</sup>	323,57 $\pm$ 12,27 <sup>b, EF</sup>	880,02 $\pm$ 26,84 <sup>a, H</sup>
Fuji Precoce	226,99 $\pm$ 8,84 <sup>c, CDE</sup>	296,21 $\pm$ 11,66 <sup>b, FG</sup>	668,09 $\pm$ 20,70 <sup>a, J</sup>
Fuji Suprema	360,50 $\pm$ 7,85 <sup>c, A</sup>	418,78 $\pm$ 12,88 <sup>b, C</sup>	1340,28 $\pm$ 11,78 <sup>a, D</sup>
Fuji Kiku 8	118,46 $\pm$ 12,23 <sup>c, G</sup>	266,13 $\pm$ 11,39 <sup>b, G</sup>	706,44 $\pm$ 12,16 <sup>a, IJ</sup>
Catarina	375,33 $\pm$ 4,35 <sup>c, A</sup>	549,64 $\pm$ 20,43 <sup>b, A</sup>	1561,97 $\pm$ 12,73 <sup>a, A</sup>
Golden			
Delicious	228,25 $\pm$ 9,92 <sup>c, CDE</sup>	302,92 $\pm$ 9,70 <sup>b, FG</sup>	548,20 $\pm$ 11,78 <sup>a, K</sup>
Epagri-F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	226,94 $\pm$ 5,18 <sup>c, CDE</sup>	441,08 $\pm$ 13,02 <sup>b, BC</sup>	1443,62 $\pm$ 13,22 <sup>a, BC</sup>
COOP-24	153,97 $\pm$ 6,60 <sup>c, F</sup>	350,29 $\pm$ 11,38 <sup>b, DE</sup>	1111,00 $\pm$ 24,31 <sup>a, F</sup>
Epagri-F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	369,30 $\pm$ 4,61 <sup>c, A</sup>	473,14 $\pm$ 7,15 <sup>b, B</sup>	1454,39 $\pm$ 57,34 <sup>a, B</sup>
Epagri-F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	203,89 $\pm$ 7,08 <sup>c, E</sup>	377,29 $\pm$ 12,76 <sup>b, D</sup>	1222,39 $\pm$ 27,30 <sup>a, E</sup>
Epagri-F P <sub>161</sub>	218,59 $\pm$ 10,48 <sup>c, DE</sup>	324,32 $\pm$ 5,14 <sup>b, EF</sup>	753,84 $\pm$ 27,78 <sup>a, I</sup>
Gala	233,76 $\pm$ 9,12 <sup>c, CD</sup>	334,83 $\pm$ 14,87 <sup>b, EF</sup>	749,30 $\pm$ 23,23 <sup>a, I</sup>
Braeburn	259,03 $\pm$ 7,63 <sup>c, B</sup>	352,73 $\pm$ 13,24 <sup>b, DE</sup>	1019,45 $\pm$ 20,40 <sup>a, G</sup>
Daiane	373,52 $\pm$ 3,00 <sup>c, A</sup>	433,10 $\pm$ 11,06 <sup>b, C</sup>	1376,94 $\pm$ 32,64 <sup>a, CD</sup>
Jonagolden	212,85 $\pm$ 12,14 <sup>c, DE</sup>	346,81 $\pm$ 18,37 <sup>b, DE</sup>	757,02 $\pm$ 23,12 <sup>a, I</sup>

<sup>a-c:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras minúsculas, na horizontal, representam diferenças significativas ( $p < 0.05$ ) pelo teste de Tukey entre as partes da fruta de cada cultivar.

<sup>A-G:</sup> Medidas seguidas por diferentes letras maiúsculas, na vertical, representam diferenças significativas ( $p < 0.05$ ) pelo teste de Tukey entre as cultivares.

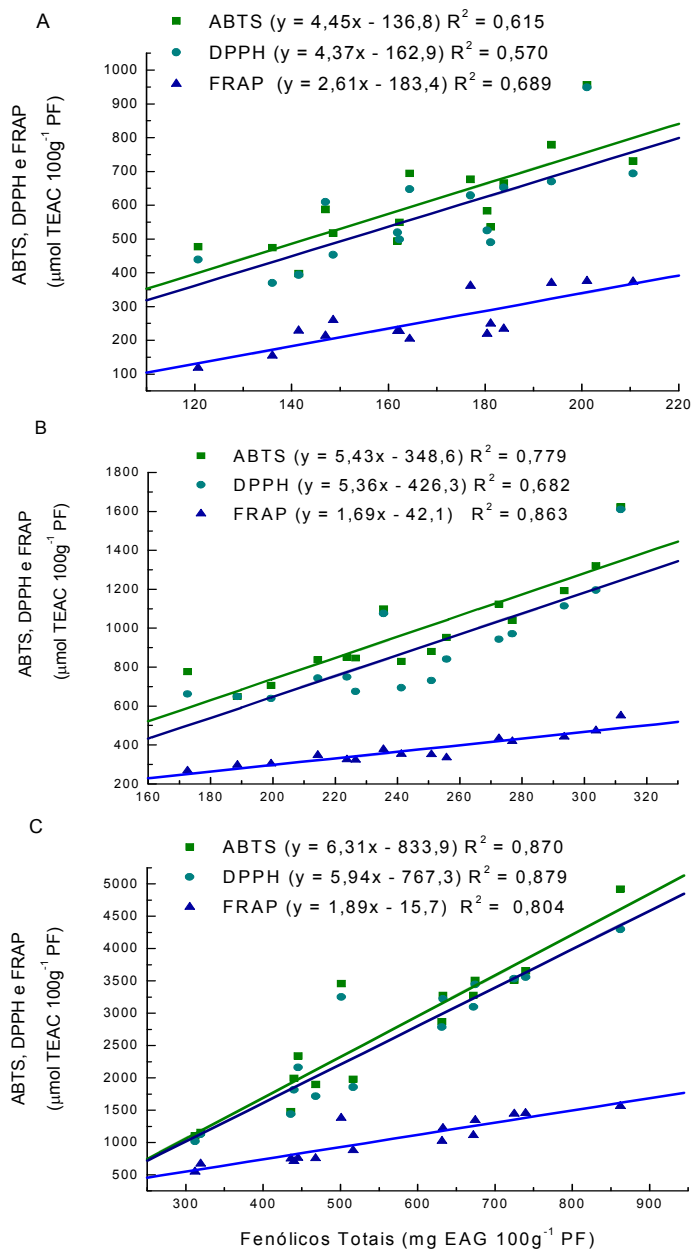
Foi observada uma relação positiva e significativa ( $p < 0,05$ ) entre a concentração de fenólicos totais e a atividade antioxidante, medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP nos extratos da polpa ( $R^2 = 0,615$ ,  $0,570$  e  $0,689$ , respectivamente) (Figura 2A), fruta inteira ( $R^2 = 0,779$ ,  $0,682$  e  $0,863$ , respectivamente) (Figura 2B) e casca ( $R^2 = 0,870$ ,  $0,879$  and  $0,804$ , respectivamente) (Figura 2C) das cultivares analisadas, embora uma relação mais fraca tenha sido observada na polpa comparados à casca e à fruta inteira.

Relação semelhante tem sido previamente reportada em vários estudos com diferentes cultivares de maçã (CHINNICI et al., 2004; D'ABROSCA et al., 2007; LECCESE et al., 2009), embora outros autores tenham encontrado uma relação mais forte entre o conteúdo de fenólicos totais e a atividade antioxidante na polpa comparada à casca (KHANIZADEH et al., 2008; VIEIRA et al., 2009b). Estes resultados são provavelmente devido aos compostos fenólicos presentes na casca e

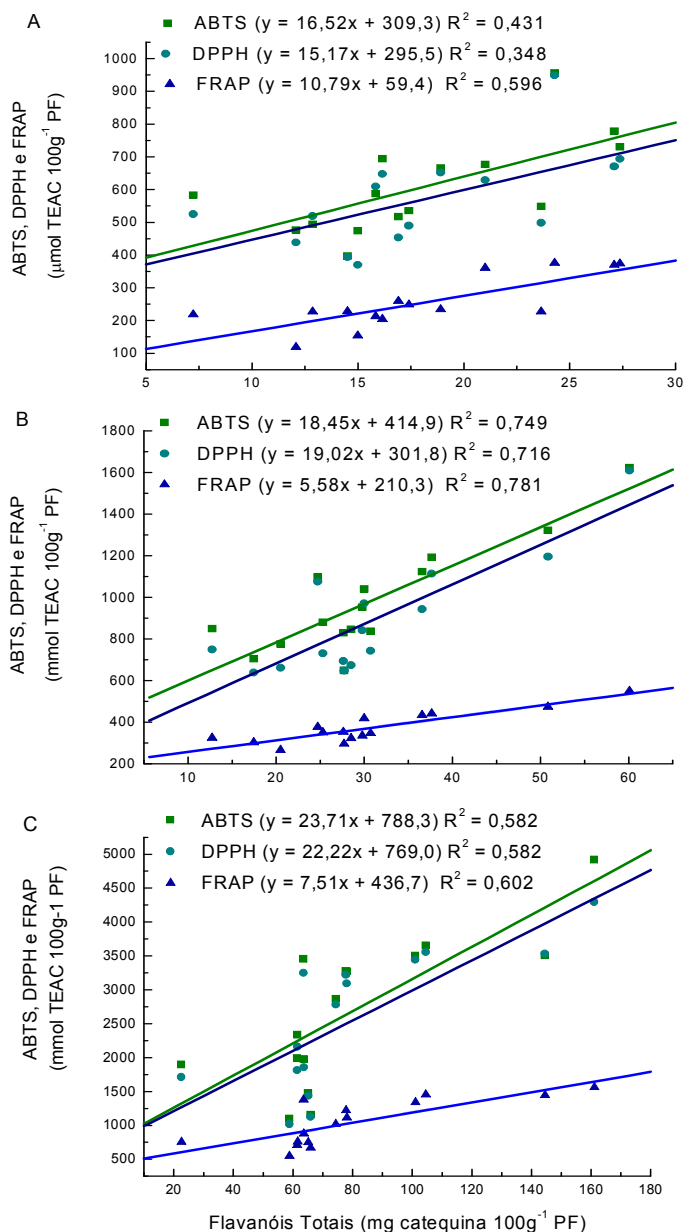
não na polpa, bem como às variações observadas entre as diferentes cultivares de maçãs analisadas nos estudos.

Entre flavanóis totais e a atividade antioxidante medida pelos três métodos também foi observada relação positiva e significativa ( $p < 0,05$ ) tanto na polpa, quanto na fruta inteira e na casca (Figuras 3A, B e C). Na polpa, a relação entre flavanóis totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP foi  $R^2 = 0,431$ ,  $0,348$  e  $0,596$ , respectivamente (Figura 3A). Foram observadas relações mais fortes entre o conteúdo de flavanóis totais e a atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP na fruta inteira ( $R^2 = 0,749$ ;  $0,716$  e  $0,781$ ) (Figura 3B) e na casca ( $R^2 = 0,582$ ;  $0,582$  e  $0,602$ ) (Figura 3C) comparados aos coeficientes observados na polpa. Além disso, observou-se também uma relação positiva e significativa ( $p < 0,05$ ) entre o conteúdo de fenólicos totais e flavanóis totais na polpa (Figura 4A), fruta inteira (Figura 4B) e casca (Figura 4C) ( $R^2 = 0,392$ ;  $0,621$  e  $0,634$ , respectivamente). O conteúdo de antocianinas monoméricas totais na casca não foi relacionado a nenhum dos parâmetros avaliados (dados não mostrados em figuras).

Uma relação positiva significativa entre flavanóis totais e atividade antioxidante na casca de maçãs também foi observada por outros pesquisadores, os quais têm reportado que os flavanóis, tais como catequina, epicatequina, procianidinas B1 e B2, devido à elevada atividade “scavenging” e elevada concentração em maçãs são os mais importantes compostos fenólicos em termos de atividade antioxidante, tanto na casca quanto na polpa (GUYOT et al., 2002; CHINICCI et al., 2004; TSAO et al., 2005; WOJDYLO et al., 2008). Semelhante ao nosso estudo, Khanizadeh et al. (2008) observaram associação mais elevada entre fenólicos totais e atividade antioxidante, medida pelo método FRAP, na casca comparada à polpa, e atribuíram este resultado à outros compostos fenólicos e/ou ao sinergismo/antagonismo entre os flavanóis e outros compostos fenólicos presentes em quantidades consideráveis em maçãs. Embora, Tsao et al. (2005) demonstraram que as antocianinas apresentam a mais elevada atividade antioxidante entre todos os padrões fenólicos testados, estas representam somente 1 % do total de compostos fenólicos em maçãs, o que explica a falta de relação observada neste estudo.

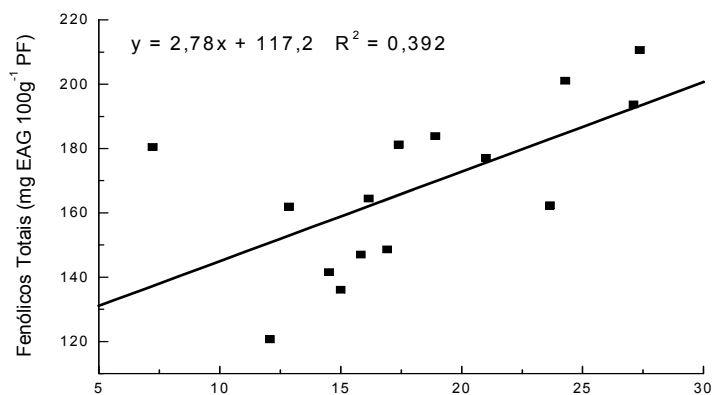


**Figura 2** Relação entre fenólicos totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP na polpa (A), fruta inteira (B) e casca (C) de quinze cultivares de maçã.

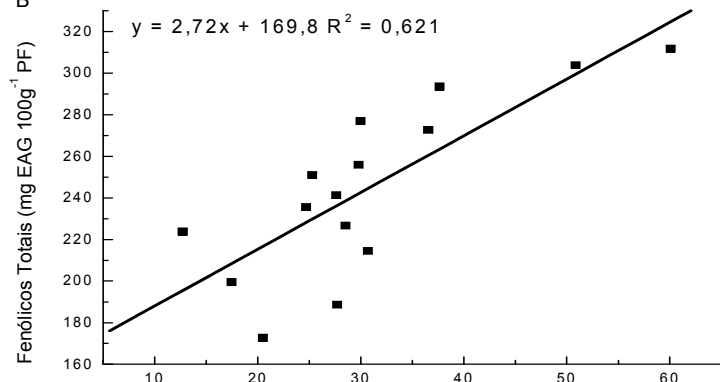


**Figura 3** Relação entre flavanóis totais e atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP na polpa (A), fruta inteira (B) e casca (C) de quinze cultivares de maçã.

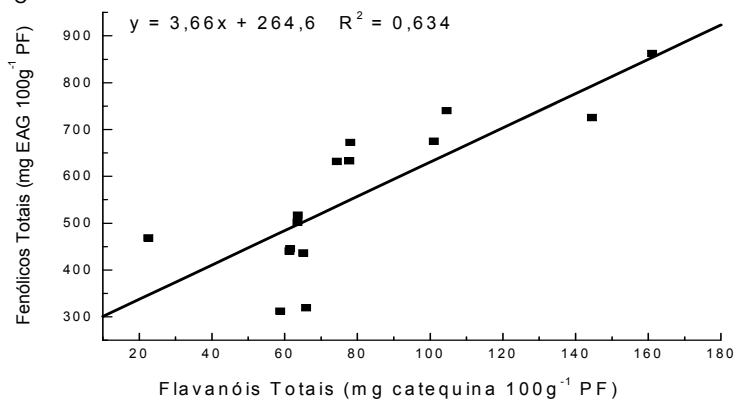
A



B



C



**Figura 4** Relação entre flavanóis totais e fenólicos totais na polpa (A), fruta inteira (B) e casca (C) de quinze cultivares de maçã.



## 4 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo indicam que o conteúdo de compostos fenólicos contribuem significativamente para a atividade antioxidante *in vitro* de maçãs, os quais são fortemente dependentes da cultivar e da parte da fruta analisada. As grandes variações observadas entre as cultivares de maçã indicam que o genótipo é principal fator determinante da composição química, especialmente do conteúdo de compostos fenólicos em maçãs. Além disso, a contribuição dos compostos fenólicos para a atividade antioxidante *in vitro* tanto da casca quanto da fruta inteira e polpa sugerem uma função importante destes compostos na biodisponibilidade da fruta inteira e indicam que o consumo de maçãs sem casca pode ocasionar uma perda importante de polifenóis, mais significativa em algumas cultivares do que em outras.

## 5 REFERÊNCIAS

- ARNOUS, A.; MARKIS, D.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavonol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 655-665, 2002.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of the AOAC International**, 18th ed. Maryland: AOAC, 2005.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (frap) as a measure of antioxidant power: the frap assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.
- BOYER, J.; LIU, R. H. Apple phytochemicals and their health benefits. **Nutrition Journal**, v. 3, p. 517S-520S, 2004.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v.28, p. 25-30. 1995.
- BUDINI, R.; TONELLI, D.; GIROTTI, S. Analysis of total phenols using the prussian blue method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, p. 1236-38, 1980.
- CHINNICI, F.; BENDINI, A.; GAIANI, A.; RIPONI, C. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. golden delicious apples as related to their phenolic composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4684-89, 2004.
- D'ABROSCA, B.; PACIFICO, S.; CEFARELLI, G.; MASTELLONE, C.; FIORENTINO, A. 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar:

- phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1333-1337, 2007.
- DI PIETRO, P.F.; MEDEIROS, N.I.; VIEIRA, N.I.; FAUSTO, M.A.; BELLÓ-KLEIN, A. Breast cancer in southern Brazil: association with past dietary intake. **Nutrición Hospitalaria**, v. 22, p. 565-72, 2007.
- DROGOUDI, P. D.; MICHAILIDIS, Z.; PANTELIDIS, G. Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 115, p. 149-153, 2008.
- EBERHARDT, M. V.; LEE, C. Y.; LIU, R. H. Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**, v. 405, p. 903-904, 2000.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Unit F1.2.1-13. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-Visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R.E. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: John Wiley, 2001.
- GUYOT, S.; LE BOURVELLEC, C.; MARNET, N.; DRILLEAU, J. F. Procyanidins are the most abundant polyphenols in dessert apples at maturity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 35, p. 289-291, 2002.
- HYSON, D.; STUDEBAKER-HALLMAN, D.; DAVIS, P. A.; GERSHWIN, M. E. Apple juice consumption reduces plasma low-density lipoprotein oxidation in healthy men and women. **Journal of Medicinal Food**, v. 3, p. 159-166, 2000.
- IBGE. Banco de dados agregados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA. **Produção agrícola municipal**. Acesso em: 2 jul. 2009.
- KHANIZADEH, S.; TSAO, R.; REKIKA, D.; YANG, R.; CHARLES, M. T.; RUPASINGHE, H. P. V. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 396-401, 2008.
- LATA, B. Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 663-671, 2007.
- LATA, B.; TRAMPCZYNSKA, A.; PACZESNA, J. Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. **Scientia Horticulturae**, v. 121, p. 176-181, 2009.
- LEA, A. G. H. Cidermaking. In: Lea, A.G.H., Piggott, J.R., (Eds.), **Fermented beverage production**. Blackie and Sons, Glasgow, 1995.
- LECCESE, A.; BARTOLINI, S.; VITI, R. Antioxidant properties of peel and flesh in GoldRush and Florina scab-resistant apple (*Malus domestica*) cultivars. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 37, p. 71-78, 2009.

- LEE, K. W.; KIM, Y. J.; KIM, D.; LEE, H. J.; LEE, C. Y. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 6516-6520, 2003.
- LEJA, M.; MARECZEK, A.; BEN, J. Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. **Food Chemistry**, v. 80, p. 303-307, 2003.
- McGHIE, T. K.; HUNT, M.; BARNET, L. E. Cultivar and growing region determine the antioxidant polyphenolic concentration and composition of apples grown in New Zealand. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 3065-70, 2005.
- PETKOVSEK, M. M.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R. Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh). **Scientia Horticulturae**, v. 114, p. 37-44, 2007.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.
- ROGINSKY, Y.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, p. 235-254, 2005.
- SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, v. 21, p. 207-13, 2005.
- TSAO, R.; YANG, R.; XIE, S.; SOCKOVIE, E.; KHANIZADEH, S. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4989-95, 2005.
- VAN DER SLUIS, A. A.; DEKKER, M.; JAGER, A.; JONGEN, W. M. F. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 3606-3613, 2001.
- VIEIRA, F. G. K.; BORGES, G. S. C.; COPETTI, C.; AMBONI, R. D. M. C.; DENARDI, F.; FETT, R. Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh) grown in southern Brazil. **Scientia Horticulturae**, v. 122, p. 421-425, 2009a.
- VIEIRA, F. G. K.; BORGES, G. S. C.; COPETTI, C.; GONZAGA, L. V.; NUNES, E. C.; FETT, R. Activity and contents of polyphenolic antioxidants in the whole fruit, flesh and peel of three apple cultivars. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 59, p. 101-106, 2009b.

WOJDYLO, A.; OSZMIANSKI, J.; LASKOWSKI, P. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties.

**Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 6520-6530, 2008.

WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant activity of apple peels.

**Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 609-14, 2003.

WU, J.; GAO, H.; ZHAO, L.; LIAO, X.; CHEN, F.; WANG, Z.; HU, X. Chemical compositional characterization of some apple cultivars. **Food Chemistry**, v. 103, p. 88-93, 2007.

**CAPÍTULO 5**  
**EFEITO DO CONSUMO AGUDO DE SUCO DE MAÇÃ (*Malus Domestica* Borkh) DE DUAS CULTIVARES SOBRE O ESTADO ANTIOXIDANTE E OXIDAÇÃO LIPÍDICA EM HUMANOS.**

**EFEITO DO CONSUMO AGUDO DE SUCO DE MAÇÃ (*Malus Domestica* Borkh) DE DUAS DIFERENTES CULTIVARES SOBRE O ESTADO ANTIOXIDANTE E OXIDAÇÃO LIPÍDICA EM HUMANOS.**

**RESUMO**

Este estudo objetivou comparar o conteúdo de compostos fenólicos, ácido ascórbico e a capacidade antioxidante de duas cultivares de maçã e o efeito do seu consumo agudo sobre o estado antioxidante e a oxidação lipídica em humanos. Foram utilizadas maçãs das cultivares Golden Delicious e Catarina colhidas em Santa Catarina, Brasil, na safra de 2009. Nove mulheres saudáveis, não fumantes, participaram deste estudo de intervenção controlado. Para permitir um consumo rápido de grandes quantidades de maçã o suco fresco foi usado. Após 48 horas de restrição de alimentos ricos em antioxidantes, todos os voluntários, em jejum, consumiram 300 mL de suco de maçã Golden Delicious, suco de maçã Catarina ou Água, e amostras de sangue foram coletadas antes e 1 hora após o consumo. Entre cada intervenção houve um intervalo de duas semanas. O suco de maçã Catarina apresentou significativamente maior conteúdo de fenólicos, flavanóis e antocianinas monoméricas totais, maior atividade antioxidante, medida pelos métodos ABTS e FRAP, comparado ao suco de maçã Golden Delicious, o qual apresentou maior conteúdo de ácido ascórbico. Uma hora após o consumo de ambos os sucos, houve significativo aumento na capacidade antioxidante, ácido ascórbico e ácido úrico sérico, e redução da oxidação lipídica, e insignificante modificação foi observada após o consumo de água (teste *t* pareado). Nenhuma diferença significativa (teste de Tukey) foi observada entre o efeito do consumo do suco da Golden Delicious e Catarina; contudo, as modificações observadas após o consumo dos sucos foram estatisticamente diferentes das observadas após o consumo de água. As concentrações séricas de fenólicos totais não foram afetadas em nenhum dos tratamentos. Nenhum efeito significativo sobre a inibição da oxidação lipídica *ex vivo* foi observado. Após a intervenção com suco de maçã Golden Delicious e Catarina, o aumento da atividade antioxidante sérica foi relacionado ao aumento da concentração sérica de ácido úrico ( $R^2 = 0,725$ ) e à redução da oxidação lipídica sérica ( $R^2 = 0,531$ ), a qual também foi relacionado ao aumento do ácido úrico sérico ( $R^2 = 0,528$ ). Nenhuma relação foi observada entre as alterações da concentração de ácido ascórbico e atividade antioxidante e oxidação

lipídica sérica. Apesar da composição química de maçãs depender da cultivar analisada, o efeito do consumo agudo sobre o estado antioxidante e oxidação lipídica em humanos não depende deste fator.

**Palavras chave:** maçã, fenólicos totais, ácido ascórbico, ácido úrico, atividade antioxidante, estudo de intervenção em humanos.

**EFFECT OF THE ACUTE INTAKE OF APPLE JUICE (*MALUS DOMESTICA* BORK) FROM TWO GENOTYPES ON THE ANTIOXIDANT STATUS AND LIPID OXIDATION IN HUMANS**

**ABSTRACT**

The objective of this study was to compare the content of phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant capacity of two apple cultivars and their effects on the antioxidant status and lipid peroxidation in humans. The Golden Delicious and Catarina apple cultivars harvested in Santa Catarina State, Brazil, in the 2009 season. Nine healthy woman, nonsmoking volunteers, participated in a single-dosing, controlled trial. To allow a quick an easy intake of apples in large quantities the fresh apple juice was used. After two days of antioxidant-poor diet, all volunteers fasted, intake 300 mL of Golden Delicious apple juice, Catarina apple juice or water, and blood samples were collected before and 1 h after the drink. Had a two weeks washout period between each intervention. The Catarina apple juice showed significantly the highest total phenolic, total flavanols, total anthocyanins content and the highest antioxidant capacity than the apple juice of the Golden Delicious cultivar, which had slightly but significantly the highest ascorbic acid content. One h after intake of both apple juices, a significant acute increase in the serum of the antioxidant capacity, ascorbic acid and uric acid, and decrease of the lipid oxidation were observed, but did not change when subjects drank water (paired test-t). No significant difference (Tukey test) was observed between the effects of the intake of Golden Delicious apple juice and Catarina apple juice; however, a significant difference among both apple juices and water was observed. Total phenolics serum levels were unaffected by the ingestion of Golden Delicious, Catarina and water. No significant effect on *ex vivo* lipid oxidation was observed. After intervention with Golden Delicious e Catarina apple juice, the increase of the serum antioxidant capacity were highly related with the increase in the uric acid serum levels ( $R^2 = 0.725$ ) and at decrease of the serum lipid oxidation ( $R^2 = 0.531$ ), which also was related at increase in the uric acid serum levels ( $R^2 = 0.528$ ). Serum ascorbic acid increase did not significantly influence the increase of the antioxidant capacity and the decrease of the serum lipid oxidation. Despite of the chemical composition of apples to be dependent of the analyzed cultivar, the effect of the acute intake on the antioxidant status and lipid oxidation in humans is not dependent of



this factor.

**Key-words:** apple, total phenolic, ascorbic acid, uric acid, antioxidant activity, human intervention study.

## 1 INTRODUÇÃO

O efeito protetor do consumo de frutas e verduras contra o desenvolvimento de diversas doenças crônicas não transmissíveis tem sido associado ao elevado conteúdo de polifenóis antioxidantes presentes nestes alimentos, os quais podem proteger o corpo humano contra o estresse oxidativo pela neutralização de radicais livres de oxigênio (MANACH et al., 2004). O consumo de maçã foi associado a diminuição do risco de doenças, tais como câncer de mama (DI PIETRO et al., 2007), doenças cardiovasculares (AUCLAIR et al., 2008) e diabetes tipo 2 (SONG et al., 2000).

Vários estudos têm mostrado que o genótipo da fruta pode substancialmente influenciar a sua composição em compostos fenólicos, ácido ascórbico e a atividade antioxidante *in vitro* (PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; KHANIZADEH et al., 2008; WOJDYLO et al., 2008; LECCESE et al., 2009; VIEIRA et al., 2009). Apesar destes parâmetros em frutas também serem regulados por fatores ambientais e pós-colheita, em maçãs é bem estabelecido que o genótipo é o principal fator determinante da composição de fitoquímicos (VAN DER SLUIS et al., 2001; McGHIE et al., 2005; LATA, 2007; KHANIZADEH et al., 2008). Estes pesquisadores sugerem que algumas cultivares podem ser mais saudáveis do que outras e que esta pode ser uma importante informação ao consumidor para reconhecer e escolher uma fruta com maior valor nutricional.

Poucos estudos de intervenção em humanos têm sido conduzidos para investigar se frutas de diferentes cultivares (genótipos) afetam diferentemente os marcadores sanguíneos do estado antioxidante e os resultados permanecem inconsistentes (VALLE et al., 2007; TULIPANI et al., 2009). Valle et al. (2007) ao investigarem o efeito do consumo de três diferentes genótipos de pêssegos (*Prunus persica*), com semelhante atividade antioxidante *in vitro* e conteúdo de polifenóis, carotenóides e ácido ascórbico, sobre as modificações na capacidade antioxidante plasmática, observaram diferenças significativas entre as cultivares de pêssego 1 hora após o consumo de 650 g de fruta. O consumo agudo de 1 Kg de morango de seis diferentes cultivares, com conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante *in vitro* significativamente diferentes, mas semelhante conteúdo de ácido ascórbico, foi comparado para testar a influência do genótipo sobre as modificações na capacidade antioxidante plasmática e concentrações séricas de ácido ascórbico e ácido úrico. Não foram observadas diferenças significativas entre os efeitos do consumo de seis cultivares de morango sobre as modificações

em quaisquer dos marcadores sanguíneos do estado antioxidante (TULIPANI et al., 2009). Estas inconsistências indicam que a composição química da fruta depende da cultivar, mas a modulação do processo fisiológico em humanos pode não ser predita somente pela sua análise química.

Entretanto, não é conhecido se maçãs de diferentes genótipos afetam diferentemente os marcadores do estado antioxidante e da oxidação lipídica em humanos. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi comparar o conteúdo de compostos fenólicos, ácido ascórbico e a capacidade antioxidante do suco de duas cultivares de maçã e seus efeitos sobre o estado antioxidante e a oxidação lipídica em humanos.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Reagentes

Reagente de Folin-Ciocalteu, (+)-catequina, 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), p-dimetilaminocinmaldeído (DMACA), 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina (TPTZ) and 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico (Trolox) foram adquiridos da Sigma Aldrich Chemical (St. Louis, MO). Ácido gálico foi obtido da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). 2,2 azobis amidinopropano (AAPH) foi adquirido da Eisai Farmacêutica (Tóquio, Japão). Todos os outros reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico (PA) e obtidos de fornecedores comerciais.

### 2.2 Cultivares de maçã

Maçãs das cultivares Golden Delicious e Catarina foram usadas neste estudo. Estes genótipos foram escolhidos a partir de uma variedade de amostras foram previamente analisadas. A maçã Catarina foi selecionada por apresentar o maior conteúdo de fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* enquanto a maçã Golden Delicious os menores valores. As cultivares de maçã foram obtidas da Estação Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), localizada em São Joaquim, SC, Brasil (latitude 28°17'25", longitude 49°56'56" e altitude 1360 m). Todas as maçãs foram colhidas por pessoal treinado, no estágio de maturação para consumo, na fase de meia estação de colheita, na safra de 2009.

Imediatamente após a colheita as amostras foram transportadas em ambiente refrigerado ao Laboratório de Química de Alimentos, onde

permaneceram armazenadas em atmosfera normal com temperatura de 2 °C e umidade relativa em torno de 93 %.

A quantidade de maçãs selecionadas pelos estudos prévios *in vivo* têm sido grandes porções, tais como cinco maçãs ou 1 Kg (LOTITO; FREI, 2004a; BRIVIDA et al., 2007), os quais não são facilmente consumidos em uma única dose (consumo agudo). Desta forma, neste estudo, 300 mL de suco de maçã (o equivalente a cinco maçãs) foi usado para permitir um consumo rápido de grande quantidade de maçã. Antes do preparo dos sucos, as maçãs foram previamente lavadas, higienizadas e secas em toalha de papel não reciclado. Em seguida as maçãs foram cortadas ao meio, retirada as sementes e o receptáculo e as frutas inteiras (casca e polpa juntas) foram então processadas em centrífuga de alimentos (Britânia, São Paulo, Brasil) para obtenção do suco, o qual foi consumido imediatamente após o preparo.

A extração dos compostos fenólicos dos sucos foi conduzida utilizando dez mililitros (10 mL) de suco diluído na proporção 1:10 com solução de acetona 80% (min), a temperatura ambiente usando ultra-som USC-1400 (Unique, São Paulo, Brasil) por 15 minutos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1000 x g por 10 min a 5°C (Fanen 280R, São Paulo, Brasil) e o sobrenadante imediatamente utilizado na determinação do conteúdo de fenólicos e flavanóis totais e na determinação da atividade antioxidante *in vitro*. A extração dos sucos de maçã para determinação das antocianinas monoméricas totais foi realizada seguindo os mesmos procedimentos de obtenção do extrato para a análise do conteúdo de fenólicos totais, com a diferença que o solvente extrator usado foi o metanol contendo 0,1% de ácido clorídrico (HCl). Todos os extratos foram preparados em triplicata.

### **2.3 Compostos fenólicos, ácido ascórbico e atividade antioxidante dos sucos de maçã**

O conteúdo de fenólicos totais dos extratos do suco foi determinado usando um método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu modificado (BUDINI et al., 1980) conforme previamente descrito no Capítulo 2. Os resultados foram expressos em miligramas (mg) de equivalentes a ácido gálico (EAG) . 100mL<sup>-1</sup> de peso fresco (PF).

A determinação do conteúdo de flavanóis totais foi realizada de acordo com o método DMACA modificado descrito por Arnous et al. (2002) conforme previamente exposto no Capítulo 3. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes a catequina . 100mL<sup>-1</sup> PF.

O conteúdo de antocianinas monoméricas totais nos extratos foi determinado pelo método da diferença de pH (GIUSTI; WROSTALD, 2001), conforme previamente descrito no Capítulo 2. Os resultados foram expressos em mg de cianidina 3-galactosídeo .100mL<sup>-1</sup> de PF.

A concentração de ácido ascórbico nos sucos foi determinada, imediatamente após o seu preparo, de acordo com o método recomendado pela *Official Methods of Analysis International* (AOAC, 2005), que consiste na determinação quantitativa do ácido ascórbico por titulação com solução de 2,6-diclorofenolindofenol.

A determinação da atividade antioxidante dos extratos acetônicos dos sucos foi avaliada de acordo com os métodos ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico) e FRAP (potencial antioxidante redutor férrico). Todos os resultados da atividade antioxidante foram expressos em termos de atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC, µMol de equivalentes trolox .100mL<sup>-1</sup> de peso fresco). O método ABTS utilizado foi o descrito por Re et al. (1999) conforme reportado no Capítulo 2. Para determinar o poder redutor aplicou-se o método FRAP desenvolvido por Benzie e Strain (1996), conforme descrito no Capítulo 3.

## 2.4 Casuística e desenho do estudo

Nove mulheres saudáveis, não fumantes, com média de idade de 23,6 anos (21 - 27 anos) e índice de massa corporal (IMC) de 20,6 kg/m<sup>2</sup> (19,0 - 23,7 kg/m<sup>2</sup>) participaram deste estudo de intervenção controlado. Os participantes integraram um único grupo, sendo eles mesmos o seu próprio controle (sistema pareado). Os voluntários foram selecionados de forma a atender os seguintes critérios de inclusão: não fumantes, não usuários de qualquer medicamento, álcool e suplementos vitamínicos e não portadores de quaisquer patologias, processos infecciosos ou inflamatórios visíveis ou conhecidos três meses antes e durante a realização do estudo.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH), da Universidade Federal de Santa Catarina (Protocolo número 239//08) (ANEXO F), e todos os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), segundo resolução do Conselho Nacional de Saúde, nº 196, de 10 de outubro de 1996 (BRASIL, 1996).

Com o intuito de melhor observar o efeito do consumo agudo dos sucos de maçã sobre o estado antioxidante e a inibição da oxidação lipídica, as voluntárias foram orientadas, verbalmente e por escrito, a

não consumirem alimentos e bebidas ricos em antioxidantes, tais como frutas, verduras, chocolate, café e chás, além de bebidas alcoólicas nas 48 horas que antecederam cada um dos dias experimentais. No primeiro dia experimental, após jejum de 12 horas, os voluntários consumiram 300 mL de suco de maçã da cultivar Golden Delicious. Uma amostra de sangue venoso periférico foi coletada, em tubos com separador de soro (Vaccutainer-BD, São Paulo-SP, Brazil), imediatamente antes (concentração basal) e 1 hora após o consumo do suco. Os voluntários se abstiveram de qualquer outro alimento ou bebida durante a 1 hora do estudo. O experimento foi repetido após um intervalo de duas semanas (*“washout period”*) com os mesmos indivíduos usando 300 mL de água, e duas semanas depois usando 300 mL de suco de maçã da cultivar Catarina. Os voluntários retornaram a sua alimentação habitual durante o intervalo de duas semanas entre cada dia experimental. Em cada intervenção foram seguidas as mesmas condições experimentais. A ordem do consumo das bebidas não foi randomizada.

## 2.5 Análises bioquímicas

Imediatamente após cada coleta, o sangue foi centrifugado a  $1000 \times g$  por 10 min e o soro usado para todas as análises bioquímicas. Para as análises de ácido ascórbico, amostras de soro foram estabilizadas com ácido tricloroacético (TCA) 12 % antes do armazenamento. Aliquotas (250  $\mu\text{L}$ ) de soro foram transferidas para tubos criogênicos de 1,5 mL, juntamente com 1 mL de TCA 12 %, e a mistura resultante foi armazenada em nitrogênio líquido até as análises.

Como nos sucos de maçã, a atividade antioxidante sérica foi determinada usando os métodos ABTS e FRAP. Os resultados foram expressos em termos de atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC,  $\mu\text{Mol}$  de equivalentes trolox  $\cdot \text{L}^{-1}$  de soro). O método ABTS utilizado foi o previamente descrito por Re et al. (1999) e o método FRAP o descrito por Benzie e Strain (1996).

A concentração de fenólicos totais no soro também foi determinada pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu modificado (BUDINI et al., 1980), após a desproteinização das amostras como descrito por Serafini et al. (1998). Os resultados foram expressos como mmol de equivalentes a ácido gálico  $\cdot \text{L}^{-1}$  de soro (mmol EAG  $\cdot \text{L}^{-1}$ ).

O ácido ascórbico foi determinado utilizando-se o método espectrofotométrico da 2,4-dinitrofenil-hidrazina (McCORMICK; GREENE, 1994). Os resultados foram expressos como mmol de equivalentes a ácido ascórbico  $\cdot \text{L}^{-1}$  de soro (mmol EAA  $\cdot \text{L}^{-1}$ ).

A concentração sérica de ácido úrico e glicose foram determinadas através de Kits enzimáticos, de acordo com as instruções do fabricante (Gold Analisa, Minas Gerais, Brasil). Os resultados do ácido úrico e glicose foram expressos em  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  de soro.

A oxidação lipídica foi avaliada através da determinação dos hidroperóxidos lipídicos (HL), determinada pelo método da oxidação do ferro com alaranjado de xilenol (FOX – do inglês, Fe+3 xylene orange) (JIANG et al., 1992) e da detecção dos derivados dos produtos da oxidação, substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS – do inglês, thiobarbituric acid-reactive substances) (ESTERBAUER; CHEESEMAN, 1990). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  de soro ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

## 2.6 Oxidação lipídica *ex vivo*

Além da análise do efeito do consumo de suco de maçã sobre a oxidação lipídica *in vivo*, avaliou-se o efeito do consumo agudo do suco de maçã sobre a inibição da oxidação lipídica *ex vivo* após a indução da oxidação das amostras de soro a 37 °C com 2,2 azobis amidinopropano (AAPH) 5mM e Cloreto de Cobre II ( $\text{CuCl}_2$ ) 100  $\mu\text{M}$  conforme descrito por Silva et al. (2008). Aliquotas de amostras foram retiradas imediatamente após a indução da oxidação para análise dos HL e TBARS. O sistema de oxidação foi mantido a 37 °C em banho-maria sobre agitação contínua no escuro por 4 horas. Após esse período foram novamente determinadas as concentrações de HL e TBARS conforme as metodologias descritas acima.

## 2.7 Análises estatísticas

Todas as análises foram efetuadas em triplicata. Todos os parâmetros avaliados nos sucos foram comparados através de análise de variância (ANOVA). Para a avaliação do efeito do consumo dos sucos e água sobre os parâmetros séricos foi aplicado teste *t* para amostras pareadas em cada grupo antes e 1 hora após o consumo. Análise de variância (ANOVA) seguida de Tukey foi utilizada para verificar a diferença entre os três grupos quanto às modificações ocorridas nos parâmetros medidos. Análise de regressão linear simples também foi utilizada. Todas as análises foram realizadas utilizando os programas estatísticos “STATISTICA 7” e “ORIGIN 5”, admitindo nível de significância de 5% ( $p < 0.05$ ).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Compostos fenólicos, ácido ascórbico e atividade antioxidante dos sucos de maçã

Extratos do suco de maçã da cultivar Golden Delicious e Catarina foram obtidos imediatamente após o preparo dos mesmos para consumo pelas voluntárias do estudo. A Tabela 1 mostra o conteúdo de compostos fenólicos, ácido ascórbico e atividade antioxidante do suco de maçã da cultivar Golden Delicious e Catarina. Diferenças estatisticamente significativa, foram observadas entre os sucos, confirmando que o genótipo desempenha forte influência sobre o valor nutricional da fruta. O suco de maçã da cultivar Catarina apresentou significativamente maior conteúdo de fenólicos, flavanóis e antocianinas monoméricas totais bem como maior atividade antioxidante comparado ao suco de maçã da cultivar Golden Delicious, o qual apresentou significativamente maior conteúdo de ácido ascórbico ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 1** Concentração de compostos fenólicos, vitamina C e atividade antioxidante do suco de maçã Golden Delicious e Catarina.

Parâmetro	Golden Delicious	Catarina
Fenólicos totais (mg EAG .100 mL <sup>-1</sup> )	108,27±5,49 <sup>b</sup>	163,83±4,44 <sup>a</sup>
Flavanóis totais (mg catequina .100 mL <sup>-1</sup> )	16,47±1,36 <sup>b</sup>	30,86±12,16 <sup>a</sup>
Antocianinas totais (mg cia-3-galact .100mL <sup>-1</sup> )	Nd	1,02±0,03 <sup>a</sup>
Ácido ascórbico (mg ácido ascórbico .100 mL <sup>-1</sup> )	1,96±0,03 <sup>a</sup>	1,30±0,07 <sup>b</sup>
ABTS (μMol TEAC .100 mL <sup>-1</sup> )	359,63±11,94 <sup>b</sup>	709,70±35,66 <sup>a</sup>
FRAP (μMol TEAC .100 mL <sup>-1</sup> )	182,94±18,26 <sup>b</sup>	306,25±12,70 <sup>a</sup>

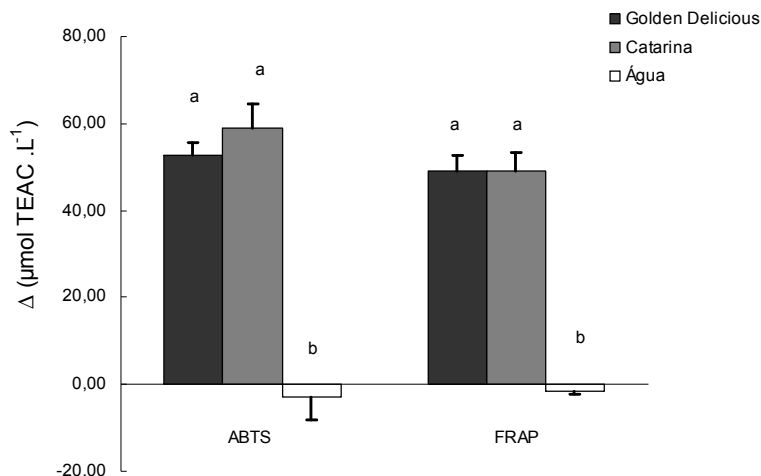
Resultados estão expressos como Média ± Desvio Padrão.

<sup>a-b</sup>: Medidas seguidas por diferentes letras minúsculas, na horizontal, representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pela Análise de Variância (ANOVA).



### 3.2 Efeito do consumo agudo do suco de maçã sobre o estado antioxidante sérico

A Figura 1 apresenta as modificações na atividade antioxidante sérica, avaliada de acordo com os métodos ABTS e FRAP, antes e 1 h após o consumo de 300 mL de suco de maçã da cultivar Golden Delicious, cultivar Catarina ou água. Os resultados da atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS e FRAP apresentaram as mesmas diferenças grupo a grupo, entre os sucos de maçã e as amostras de soro, confirmando assim que as duas técnicas são comparáveis e aplicáveis para análises *in vitro* e *in vivo*. A atividade antioxidante medida pelo ABTS foi maior do que a observada pela técnica do FRAP, contudo uma forte relação entre os dois métodos foi observada em todos os grupos ( $R^2 = 0.794$ ,  $p = 0.0013$ ). A atividade antioxidante sérica avaliada pelo método ABTS, antes do consumo foi  $1253,66 \pm 33,16 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para o suco da Golden Delicious,  $1063,43 \pm 72,29 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para o suco da Catarina e  $1173,94 \pm 67,32 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para a água. Antes do consumo, a atividade antioxidante sérica medida pela técnica do FRAP foi  $487,14 \pm 17,87 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para o suco da Golden Delicious,  $463,60 \pm 26,74 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para o suco da Catarina e  $449,82 \pm 20,88 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para a água. Após o consumo de ambos os sucos, foi observado um significativo aumento na capacidade antioxidante sérica avaliada pelos dois métodos, porém nenhuma modificação foi observada quando os voluntários consumiram água (teste *t* pareado). A atividade antioxidante sérica medida pelo método ABTS aumentou 4,2 % ( $52,75 \pm 2,84 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) e 5,5 % ( $58,81 \pm 5,58 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) enquanto que pelo método FRAP aumentou 10,2 % ( $49,02 \pm 3,80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) e 10,6 % ( $49,20 \pm 4,04 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 1 hora após o consumo de suco de maçã da cultivar Golden Delicious e Catarina, respectivamente. Nenhuma diferença significativa ( $p > 0,05$ , Teste de Tukey) foi observada entre o efeito do consumo do suco da Golden Delicious e Catarina; contudo, as modificações observadas após o consumo dos sucos foram estatisticamente diferentes das observadas após o consumo de água.

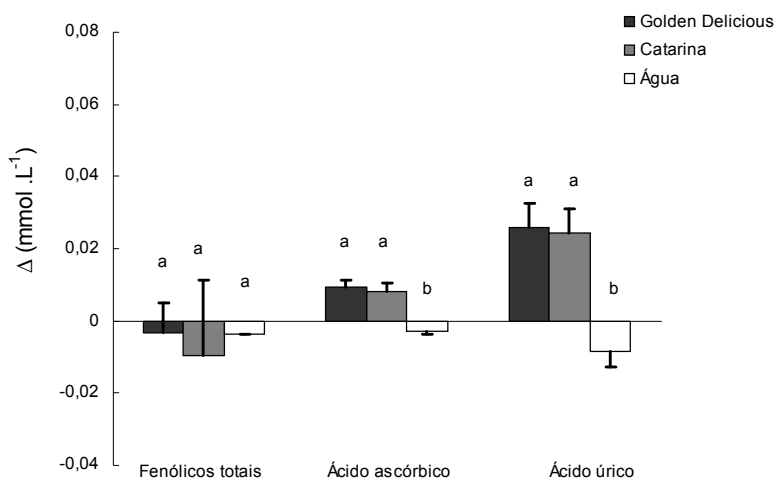


**Figura 1** Modificações na atividade antioxidante sérica em humanos, medida pelos métodos ABTS e FRAP, 1 hora após o consumo de suco de maçã cultivar Golden Delicious, cultivar Catarina ou água.

Resultados representam modificações médias ( $\Delta$ )  $\pm$  Erro Padrão da Média (EPM) ( $\mu\text{mol TEAC} \cdot \text{L}^{-1}$ ) para todas as voluntárias. Medidas seguidas por diferentes letras representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Para avaliar se o consumo de suco de maçã de diferentes cultivares afeta a atividade antioxidante sérica via modificação de outros antioxidantes, foram determinadas as concentrações séricas de fenólicos totais, ácido ascórbico e ácido úrico (Figura 2). As concentrações séricas de fenólicos totais não foram afetadas pelo consumo do suco de maçã da cultivar Golden Delicious, Catarina e água. Com o concomitante aumento da atividade antioxidante, foi observado um rápido aumento nas concentrações séricas de ácido ascórbico e ácido úrico após 1 hora do consumo de ambos os sucos de maçãs e nenhuma modificação significativa foi observada após o consumo de água (teste  $t$  pareado). As concentrações de ácido ascórbico antes e 1 hora após o consumo variou entre  $0,083 \pm 0,001$  e  $0,093 \pm 0,002 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  para o suco de maçã Golden Delicious (aumento de 11,1 % após o consumo), entre  $0,071 \pm 0,003$  e  $0,079 \pm 0,003 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  para o suco de maçã Catarina (aumento de 11,2 %) e entre  $0,084 \pm 0,004$  e  $0,084 \pm 0,003 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  para a Água (redução de 0,3 %). A concentração sérica de ácido úrico antes e 1 hora

após o consumo variou entre  $0,30 \pm 0,02$  e  $0,33 \pm 0,02$   $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  para o suco de maçã Golden Delicious (aumento de 8,5 %),  $0,28 \pm 0,02$  e  $0,31 \pm 0,02$   $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  para o suco de maçã Catarina (aumento de 8,6 %) e  $0,31 \pm 0,02$  e  $0,30 \pm 0,02$   $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  para a Água (redução de 2,7 %). Não foi observada qualquer diferença significativa ( $p > 0,05$ , Teste de Tukey) entre as modificações nas concentrações séricas de ácido ascórbico e ácido úrico após o consumo de suco de maçã Golden Delicious e Catarina; entretanto, as modificações destes parâmetros após o consumo de ambos os sucos foram estatisticamente diferentes das modificações ocorridas após o consumo de água (Figura 2).



**Figura 2** Modificações na concentração sérica de fenólicos totais, ácido ascórbico e ácido úrico, 1 hora após o consumo de suco de maçã cultivar Golden Delicious, cultivar Catarina ou água.

Resultados representam modificações médias ( $\Delta$ )  $\pm$  Erro Padrão da Média (EPM) ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) para todas as voluntárias. Medidas seguidas por diferentes letras representam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

As modificações observadas na atividade antioxidante séricas, medida pelos métodos ABTS e FRAP, foram positivamente relacionadas às modificações observadas nas concentrações de ácido úrico sérico após o consumo do suco de maçã Golden Delicious ( $R^2 = 0,806$  e  $R^2 = 0,725$ ,  $p < 0,01$ , respectivamente) e Catarina ( $R^2 = 0,903$  e  $R^2 = 0,912$ ,  $p < 0,001$ , respectivamente). Entretanto, nenhuma relação positiva

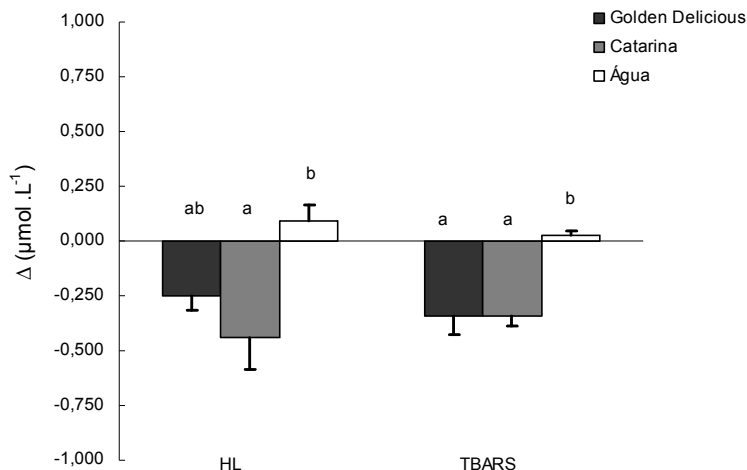
significante ( $p > 0,05$ ) foi observada entre as modificações na atividade antioxidante, avaliada pelos métodos ABTS e FRAP, e as modificações nas concentrações séricas de ácido ascórbico em ambos os sucos (Golden Delicious:  $R^2 = 0,153$  e  $R^2 = 0,222$ , respectivamente; Catarina:  $R^2 = 0,122$  e  $R^2 = 0,128$ , respectivamente). Estes dados sugerem que o ácido ascórbico proveniente das maçãs não exerce significativa contribuição para o aumento da atividade antioxidante sérica após o consumo de suco de maçã. A intervenção não afetou as concentrações séricas de glicose (dados não mostrados).

### 3.3 Efeito do consumo de suco de maçã sobre a oxidação lipídica sérica

A Figura 3 mostra a oxidação lipídica sérica, antes e 1 hora após o consumo de suco de maçã Golden Delicious, suco de maçã Catarina e Água avaliada através da determinação das concentrações de hidroperóxidos lipídicos (HL) e das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). As concentrações séricas de HL e TBARS diminuíram sutilmente, mas significativamente após o consumo de ambos os sucos de maçã e não foram alterados após o consumo de água (Teste  $t$  pareado). As concentrações séricas de HL variaram antes e 1 hora após o consumo, entre  $8,66 \pm 0,64$  e  $8,46 \pm 0,63 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para o suco de Golden Delicious (redução de 2,3 %), entre  $8,89 \pm 0,71$  e  $8,44 \pm 0,75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para o suco de Catarina (redução de 5,0 %) e entre  $8,55 \pm 0,57$  e  $8,64 \pm 0,61 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para a Água (aumento de 1,0 %). A concentração sérica de TBARS variou antes e 1 hora após o consumo, entre  $10,42 \pm 0,92$  e  $10,08 \pm 0,95 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para o suco de Golden Delicious (redução de 3,3 %), entre  $10,27 \pm 0,44$  e  $9,93 \pm 0,47 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para o suco de Catarina (redução de 3,3 %) e entre  $10,35 \pm 0,52$  e  $10,38 \pm 0,53 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para a Água (aumento de 0,3 %). Como observado no estado antioxidante, nenhuma diferença significativa ( $p > 0,05$ , Teste de Tukey) foi observada entre o consumo do suco das duas cultivares, em ambos os marcadores da oxidação lipídica. Além disso, as modificações nas concentrações séricas de TBARS após o consumo de ambos os sucos foram estatisticamente diferentes das modificações ocorridas após o consumo de Água, entretanto, quanto às modificações observadas nas concentrações de HL, foram observadas diferenças significativas somente entre o consumo de suco de Catarina e Água.

A redução da oxidação lipídica sérica medida pelo HL e TBARS foi significantivamente relacionada ao aumento da atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS ( $R^2 > 0,800$ ,  $p < 0,005$ ) e

FRAP ( $R^2 > 0,531$ ,  $p < 0,05$ ) e ao aumento do ácido úrico sérico ( $R^2 > 0,528$ ,  $p < 0,05$ ) na intervenção com suco de maçã Golden Delicious e Catarina. Nenhuma relação foi observada entre o aumento da concentração sérica de ácido ascórbico e a diminuição da oxidação lipídica sérica medida pelos dois parâmetros ( $R^2 < 0.162$ ,  $p = 0,281$ ).



**Figura 3** Modificações na concentração sérica de hidroperóxidos lipídicos (HL) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), 1 hora após o consumo de suco de maçã cultivar Golden Delicious, cultivar Catarina ou água.

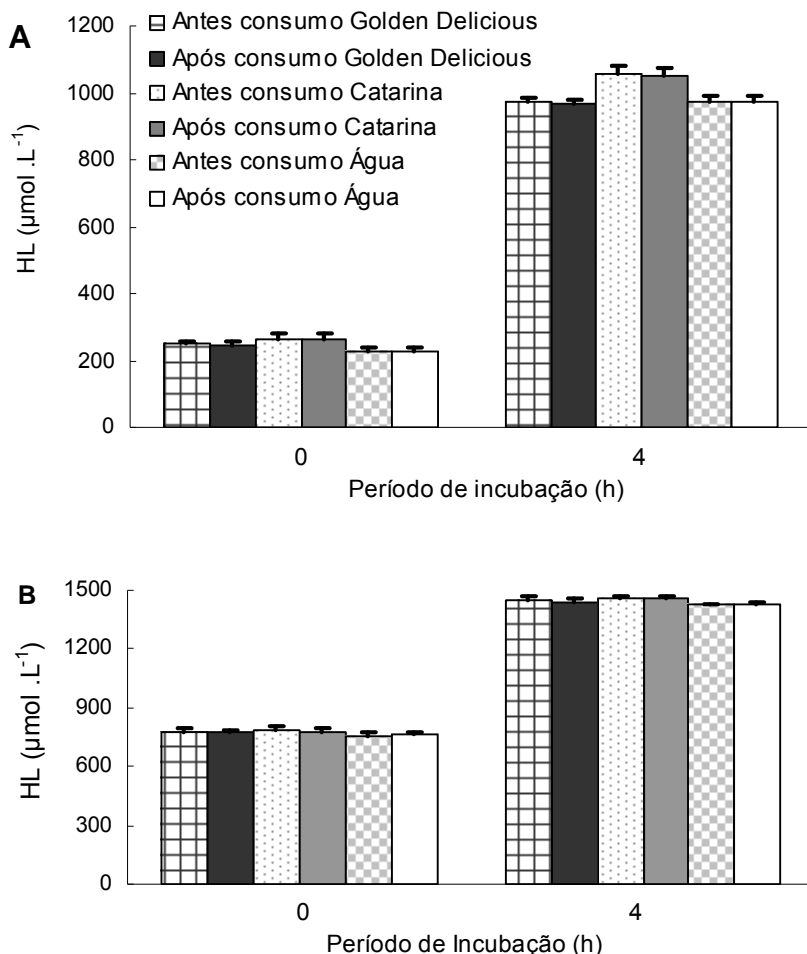
Resultados representam modificações médias ( $\Delta$ )  $\pm$  Erro Padrão da Média (EPM) ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) para todas as voluntárias. Medidas seguidas por diferentes letras representam diferenças significantes ( $p < 0.05$ ) pelo teste de Tukey.

### 3.4 Efeito do consumo de suco de maçã sobre a oxidação lipídica *ex vivo*

Além da análise do efeito do consumo agudo de maçã sobre a oxidação lipídica *in vivo*, avaliou-se o efeito do consumo de suco de maçã sobre a inibição da oxidação lipídica *ex vivo*, após a indução da oxidação das amostras de soro, coletadas antes e após o consumo de suco ou água, com AAPH 5 mM ou  $\text{CuCl}_2$  100  $\mu\text{M}$ . O sistema de oxidação foi mantido a 37 °C em banho-maria sobre agitação contínua no escuro por 4 horas. As concentrações de HL e TBARS foram

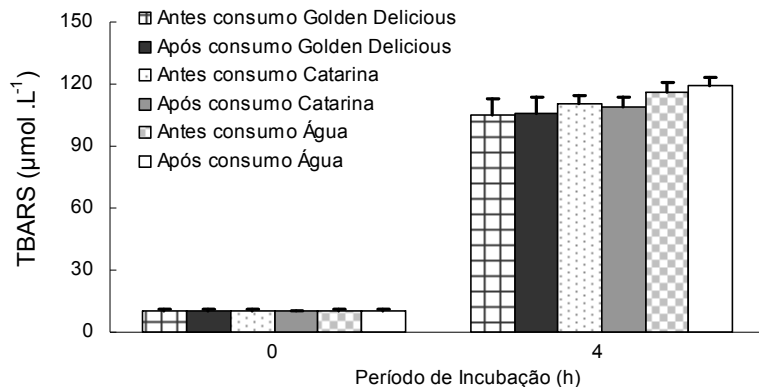
determinadas no tempo zero e quatro horas após a indução da oxidação (Figuras 4 e 5). A partir de testes preliminares observou-se que a técnica do TBARS não pôde ser realizada no sistema cuja oxidação foi induzida com o AAPH 5 mM, em função de interferentes entre o agente oxidante e os reagentes da técnica.

Como pode ser observado nas Figuras 4 e 5, o consumo de suco de maçã Golden Delicious, Catarina ou Água não apresentaram nenhum efeito significativo sobre a oxidação *ex vivo* dos lipídeos séricos medidos pelos HL e TBARS, em nenhum dos dois períodos de incubação. Assim, embora o consumo agudo de suco de maçã da cultivar Golden Delicious e cultivar Catarina tenha promovido um significativo aumento na atividade antioxidante (Figura 1) e uma redução da oxidação lipídica *in vivo* (Figura 3), o consumo de suco de maçã destas duas cultivares não promoveu uma proteção significativa do soro contra a indução da oxidação lipídica *ex vivo*.



**Figura 4** Efeito do consumo de suco de maçã cultivar Golden Delicious, cultivar Catarina ou Água sobre a oxidação lipídica *ex vivo* medida pelos hidroperóxidos lipídicos.

Sangue foi obtido de 9 voluntárias antes e 1 h após o consumo de 300 mL de suco de maçã cultivar Golden Delicious, cultivar Catarina e Água. Soro foi preparado e incubado com (A) AAPH 5 mM e (B)  $\text{CuCl}_2$  100  $\mu\text{M}$  por 0 e 4 horas a 37° C. Valores representam média  $\pm$  EPM. Resultados antes e após consumo em cada tratamento foram comparados através de teste *t*-pareado. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes em nenhum dos tratamentos nos dois períodos de incubação.



**Figura 5** Efeito do consumo agudo de suco de maçã cultivar Golden Delicious, cultivar Catarina ou Água sobre a oxidação lipídica *ex vivo* medida pelo TBARS.

Sangue foi obtido de 9 voluntárias antes e 1 h após o consumo de 300 mL de suco de maçã cultivar Golden Delicious, cultivar Catarina e Água. Soro foi preparado e incubado com  $\text{CuCl}_2$  100  $\mu\text{M}$  por 0 e 4 horas a 37° C. Valores representam média  $\pm$  EPM. Resultados antes e após consumo em cada tratamento foram comparados através de teste *t*-pareado. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes em nenhum dos tratamentos nos dois períodos de incubação.

#### 4 DISCUSSÃO

Os frutos de maçã utilizadas neste estudo são provenientes de dois diferentes genótipos, Golden Delicious e Catarina, previamente selecionados devido seus diferentes conteúdos em compostos fenólicos e atividade antioxidante *in vitro*. Como esperado, foram observadas diferenças significativas entre as duas cultivares, confirmando que o genótipo exerce importante influência no valor nutricional da fruta (PETKOVSEK et al., 2007; DROGOUDI et al., 2008; KHANIZADEH et al., 2008; WOJDYLO et al., 2008; LECCESE et al., 2009; VIEIRA et al., 2009). Além disso, os resultados deste estudo demonstraram que em sucos de maçã a capacidade antioxidante *in vitro* é atribuída principalmente aos compostos fenólicos em virtude da quantidade relativamente baixa de ácido ascórbico (EBEHARDT et al., 2000; DROGOUDI et al., 2008).

Estudos de intervenção em humanos constituem uma importante



ferramenta para identificar a atividade antioxidante de diferentes alimentos e a biodisponibilidade no organismo. Dados sobre a influência do genótipo de uma fruta sobre os marcadores do estado antioxidante e oxidação lipídica em humanos são escassos e até o momento, nenhum estudo de intervenção em humanos tem sido publicado para analisar esses efeitos após o consumo de diferentes cultivares de maçã. Neste sentido, este estudo de intervenção de única-dose, analisou o efeito do consumo de suco fresco de maçã da cultivar Golden Delicious e Catarina sobre o estado antioxidante e a oxidação lipídica no soro de nove voluntárias saudáveis. O desenho deste estudo tem sido usado por outros autores para avaliar o efeito antioxidante *in vivo* de maçãs, outras frutas e sucos (BITSCH et al., 2001; LOTITO; FREI, 2004a; Ko et al., 2005; VALLE et al., 2007; HASSIMOTTO et al., 2008). A inclusão de um grupo placebo, no nosso caso a água, não é fácil por razões lógicas quando alimentos tais como frutas e vegetais são testados. Estudos de intervenção com humanos também possuem o problema de ter que submeter os participantes ao consumo de grandes quantidades do alimento a ser testado (MAFFEI et al., 2007). Por esta razão, neste estudo, foi utilizado 300 mL de suco de maçã para permitir uma ingestão fácil e rápida de maçãs frescas (média 5 maçãs/participante) por todos os participantes envolvidos no estudo. Além disso, tem sido demonstrado que a maçã na forma de suco também apresenta atividade antioxidante *in vivo* (KO et al., 2005).

Uma hora após o consumo de suco de maçã de ambas as cultivares, foi observado semelhante aumento, estatisticamente significativo, na capacidade antioxidante sérica medida pelos métodos ABTS e FRAP. Porém as concentrações séricas de fenólicos totais não foram afetadas, mas foi observado um aumento na concentração sérica de ácido ascórbico após o consumo dos sucos de ambas as cultivares. Observou-se também que a atividade antioxidante sérica aumentou concomitantemente com o aumento do ácido úrico sérico, o qual é um dos maiores contribuintes da capacidade antioxidante do soro humano (BENZIE; STRAIN, 1996; RE et al., 1999). As análises de regressão linear revelaram que o ácido úrico, foi o responsável pelo aumento da atividade antioxidante sérica medida pelos métodos ABTS e FRAP após o consumo do suco de maçã de ambas as cultivares.

Exceto para as concentrações séricas de fenólicos totais, os resultados obtidos com os sucos de maçãs de ambas as cultivares diferiram consideravelmente daqueles obtidos com a água, os quais foram usados em nosso estudo como um controle livre de compostos fenólicos. Não foi observada nenhuma evidência do efeito placebo neste

estudo. Pequenas variações, porém não significativas, após o consumo de água sugere efeito fisiológico no organismo, além disso, estas modificações podem ser um reflexo de variações diurnas que ocorrem nos parâmetros séricos medidos (LOTITO; FREI, 2004a).

Os resultados deste estudo confirmam os previamente reportados por estudos de intervenção em humanos que demonstraram um significativo aumento agudo na capacidade antioxidante *in vivo*, concentração de ácido ascórbico e ácido úrico, 1 hora após o consumo de maçã ou suco de maçã (BITSCH et al., 2001; LOTITO; FREI, 2004a; KO et al., 2005; MAFFEI et al., 2007; BRIVIDA et al., 2008). Estudos prévios têm reportado que apesar da elevada capacidade antioxidante *in vitro* de frutas, o consumo de grandes quantidades destas parece não resultar em um equivalente efeito antioxidante *in vivo* no soro. Neste estudo, a atividade antioxidante medida nos sucos de maçã não refletiu totalmente a atividade antioxidante sérica. Apesar da maior atividade antioxidante *in vitro* e maior conteúdo de compostos fenólicos e sutil, porém menor conteúdo de ácido ascórbico no suco de maçã da cultivar Catarina, as modificações na capacidade antioxidante *in vivo*, concentrações séricas de fenólicos totais, ácido ascórbico e ácido úrico foram semelhantes após o consumo dos sucos de ambas as cultivares de maçã. Uma explicação para as diferenças observadas entre os experimentos *in vivo* e *in vitro* pode ser devido à baixa biodisponibilidade, bem como a efetiva conversão metabólica dos polifenóis presentes na maçã que são absorvidos no corpo humano (RISO et al., 2005). Outra explicação para as semelhanças observadas entre o consumo de suco de maçã das duas cultivares é que a absorção do ácido ascórbico não depende da dose (RISO et al., 2005) e, desta forma, é possível que a quantidade de ácido ascórbico presente no suco de maçã da cultivar Catarina tenha sido suficiente para promover um aumento semelhante na concentração sérica de ácido ascórbico.

Além disso, Lotito e Frei (2004a) atribuíram o aumento da capacidade antioxidante *in vivo*, medida pelo método FRAP, 1 h após o consumo de maçãs da cultivar Red Delicious, ao efeito do metabolismo da frutose presente em maçãs, sobre a concentração sérica de ácido úrico, e observaram que o conteúdo de polifenóis e ácido ascórbico da maçã não apresentaram qualquer efeito. A frutose, o açúcar predominante das frutas, tem sido associada ao aumento dos níveis séricos de ácido úrico devido à rápida degradação da adenosina trifosfato (ATP) hepática usada na reação catalisada pela frutoquinase, enzima que degrada a frutose. A redução temporária da ATP hepática e do fosfato inorgânico ocasiona a redução da inibição das enzimas 5'-

nucleotidase e adenosina monofosfato (AMP) desaminase, respectivamente. Estas duas enzimas por sua vez quando ativas são responsáveis pela degradação da AMP a ácido úrico (HALLFRISCH, 1990). Neste sentido, os resultados deste estudo reforçam as hipóteses sugeridas por Lotito e Frei (2004a), de que o aumento da capacidade antioxidante *in vivo* pode ser uma consequência do efeito do metabolismo da frutose e não pode ser atribuída ao consumo do ácido ascórbico e dos polifenóis presentes em maçãs.

Os resultados deste trabalho mostraram também que um rápido aumento da capacidade antioxidante e da concentração sérica de ácido úrico pode ocorrer concomitantemente com uma diminuição da oxidação lipídica, como avaliada pela concentração dos HL e TBARS, dentro de 1 hora após o consumo de suco de maçã de ambas as cultivares. Semelhantes resultados foram observados por Jensen et al. (2008) e García-Alonso et al. (2006) 2 h após o consumo de suco de açaí e suco de fruta misto, respectivamente. Estes autores sugeriram que a diminuição na oxidação lipídica pode ser devido ao consumo de compostos fenólicos provenientes dos sucos. García-Alonso et al. (2006) reportaram que a diminuição da concentração de TBARS foi consistente com pequenas variações observadas nas concentrações séricas de fenólicos totais, sugerindo que os fenólicos provenientes dos sucos foram rapidamente absorvidos, entraram na circulação sanguínea, e começaram a se ligar aos lipídeos séricos em quantidade suficiente para promover uma significativa redução da oxidação lipídica. Os compostos fenólicos dos alimentos são bons candidatos na prevenção da oxidação lipídica em humanos, devido à capacidade destes em prevenir diretamente a reação em cadeia das espécies reativas de oxigênio com os ácidos graxos poliinsaturados das lipoproteínas e/ou pela capacidade de preservar outros antioxidantes interruptores da reação em cadeia, tais como o ácido úrico (FILIPE et al., 2001). Desta forma, nossos resultados de que as concentrações séricas de fenólicos totais não foram modificadas 1 h após o consumo do suco de maçã de ambas as cultivares pode refletir o efeito destes compostos na proteção dos lipídeos séricos contra a oxidação e preservação das concentrações séricas de ácido ascórbico e ácido úrico.

Entretanto, os resultados deste estudo não mostraram qualquer efeito protetor contra a oxidação lipídica *ex vivo* induzida pelo AAPH ou  $\text{CuCl}_2$ , após o consumo de suco de ambas as cultivares de maçã. Resultados semelhantes foram previamente observados em estudos de intervenção de única dose. Briviba et al. (2007) não observaram proteção significativa da LDL contra a oxidação induzida *ex vivo* 1 hora

após o consumo de 1 Kg de maçã da cultivar Golden Delicious cultivada pelo sistema convencional ou orgânico. Lotito e Frei (2004b) igualmente não observaram qualquer efeito protetor do consumo agudo de maçãs contra oxidação lipídica *ex vivo*, avaliada através das concentrações sanguíneas de HL.

Em resumo, este estudo de intervenção de curta duração, sobre o efeito do consumo agudo de maçãs de duas cultivares, com diferentes conteúdos de compostos fenólicos e ácido ascórbico, sugere que a cultivar influencia a composição química da fruta, porém as modificações observadas no estado antioxidante e oxidação lipídica em humanos são independentes da cultivar.

## 5 REFERÊNCIAS

- ARNOUS, A.; MARKIS, D.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavonol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 655-665, 2002.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of the AOAC International**, 18th ed. Maryland: AOAC, 2005.
- AUCLAIR, S.; SILBERBERG, M.; GUEUX, E.; MORAND, C.; MAZUR, A.; MILENKOVIC, D.; SCALBERT, A. Apple polyphenols and fibers attenuate atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 5558-5563, 2008.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (frap) as a measure of antioxidant power: the frap assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.
- BITSCH, R.; NETZEL, M.; CARLÉ, E.; STRASS, G.; KESSENHEIMER, B.; HERBST, M.; BITSCH, I. Bioavailability of antioxidative compounds from Brettacher apple juice in humans. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 1, p. 245-249, 2001.
- BRASIL, 1996).
- BRIVIDA, K.; STRACKE, B. A.; RÜFER, C. E.; WATZL, B.; WEIBEL, F. P.; BUB, A. Effect of consumption of organically and conventionally produced apples on antioxidant activity and DNA damage in humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 7716-7721, 2007.

- BUDINI, R.; TONELLI, D.; GIROTTI, S. Analysis of total phenols using the prussian blue method. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 28, p. 1236-38, 1980.
- DI PIETRO, P.F.; MEDEIROS, N.I.; VIEIRA, N.I.; FAUSTO, M.A.; BELLÓ-KLEIN, A. Breast cancer in southern Brazil: association with past dietary intake. **Nutrición Hospitalaria**, v. 22, p. 565-72, 2007.
- DROGOUDI, P. D.; MICHAILIDIS, Z.; PANTELIDIS, G. Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 115, p. 149-153, 2008.
- EBERHARDT, M. V.; LEE, C. Y.; LIU, R. H. Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**, v. 405, p. 903-904, 2000.
- ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 407-421, 1990.
- FILIPPE, P.; LANÇA, V.; SILVA, J. N.; MORLIÈRE, P.; SANTUS, R.; FERNANDES, A. Flavonoids and urate antioxidant interplay in plasma oxidative stress. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 221, p. 79-87, 2001.
- GARCÍA-ALONSO, J.; ROS, G.; VIDAL-GUEVARA, M. L.; PERIAGO, M. J. Acute intake of phenolic-rich juice improves antioxidant status in healthy subjects. **Nutrition Research**, v. 26, p. 330-339, 2006.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Unit F1.2.1-13. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-Visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R.E. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: John Wiley, 2001.
- HALLFRISCH, J. Metabolic effects of dietary fructose. **FASEB J.**, v. 4, p. 2652-60, 1990.
- HASSIMOTTO, N. M. A.; PINTO, M. S.; LAJOLO, F. M. Antioxidant status in humans after consumption of blackberry (*Rubus Fruticosus* L.) juices with and without defatted milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 11727-11733, 2008.
- JENSEN, G. S.; WU, X.; PATTERSON, K. M.; BARNES, J.; CARTER, S. G.; SCHERWITZ, L.; BEAMAN, R.; ENDRES, J. R.; SCHAUSS, A. G. In Vitro and in Vivo Antioxidant and Anti-inflammatory Capacities of an Antioxidant-Rich Fruit and Berry Juice Blend. Results of a Pilot and Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled, Crossover Study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8326-8333, 2008.
- JIANG, Z. Y.; HUNT, J. J.; WOLFF, S. P. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low

- density lipoprotein. **Analytical Biochemistry**, v. 202, p. 384-389, 1992.
- KHANIZADEH, S.; TSAO, R.; REKIKA, D.; YANG, R.; CHARLES, M. T.; RUPASINGHE, H. P. V. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 396-401, 2008.
- KNEKT, P.; JARVINEN, R.; REUNANEN, A.; MAATELA, J. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. **British Medical Journal**, v. 312, p. 478-481, 1996.
- KO, S. H.; CHOI, S. W.; YE, S. K.; CHO, B. L.; KIM, H. S.; CHUNG, M. H. Comparison of the antioxidant activities of nine different fruits in human plasma. **Journal of Medicinal Food**, v. 8, p. 41-46, 2005.
- KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; GARCIA-PARILLA, M. C.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 691-693, 2004.
- LATA, B. Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 55, p. 663-671, 2007.
- LECCESE, A.; BARTOLINI, S.; VITI, R. Antioxidant properties of peel and flesh in GoldRush and Florina scab-resistant apple (*Malus domestica*) cultivars. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 37, p. 71-78, 2009.
- LOTITO, S. B.; FREI, B. The increase in human plasma antioxidant capacity after apple consumption is due to the metabolic effect of fructose on urate, not apple-derived antioxidant flavonoids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 37, p. 251-258, 2004a.
- LOTITO, S.; FREI, B. Relevance of apple polyphenols as antioxidants in human plasma: contrasting in vitro and in vivo effects. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 36, p. 201-211, 2004b.
- MAFFEI, F.; TAROZZI, A.; CARBONE, F.; MARCHESI, A.; HRELIA, S.; ANGELONI, C.; FORTI, G. C.; HRELIA, P. Relevance of apple consumption for protection against oxidative damage induced by hydrogen peroxide in human lymphocytes. **British Journal of Nutrition**, v. 97, p. 921-927, 2007.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, p. 727-747, 2004.
- MCCORMICK, D. B.; GREENE, H. L. Vitamins: ascorbic acid. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. (eds). **Tietz Textbook of Clinical Chemistry**, 2 ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994.
- McGHIE, T. K.; HUNT, M.; BARNET, L. E. Cultivar and growing

- region determine the antioxidant polyphenolic concentration and composition of apples grown in New Zealand. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 3065-70, 2005.
- PETKOVSEK, M. M.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R. Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh). **Scientia Horticulturae**, v. 114, p. 37-44, 2007.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.
- RISO, P.; VISIOLI, F.; GARDANA, C.; GRANDE, S.; BRUSAMOLINO, A.; GALVANO, F.; GALVANO, G.; PORRINI, M. Effects of blood orange juice intake on antioxidant bioavailability and on different markers related to oxidative stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 941-947, 2005.
- SERAFINI, M.; MAIANI, G.; FERRO-LUZZI, A. Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. **The Journal of Nutrition**, v. 128, p. 1003-1007, 1998.
- SILVA, E. L.; NEIVA, T. J. C.; SHIRAI, M.; TERAQ, J.; ABDALLA, D. S. P. Acute ingestion of yerba mate infusion (*Ilex paraguariensis*) inhibits plasma and lipoprotein oxidation. **Food Research International**, v. 41, p. 973-979, 2008.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.
- SONG, Y.; MANSON, J. E.; BURING, J. E.; SESSO, H. D.; LIU, S. Associations of dietary flavonoids with risk of type 2 diabetes, and markers of insulin resistance and systemic inflammation in women: a prospective study and cross-sectional analysis. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 24, p. 376-384, 2005.
- TABAK, C.; ARTS, I. C. W.; SMIT, H. A.; HEEDERIK, D.; KROMHOUT, D. Chronic obstructive pulmonary disease and intake of catechins, flavonols, and flavones - the MORGEN study. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 164, p. 61-64, 2000.
- TULIPANI, S.; ROMANDINI, S.; BUSCO, F.; BOMPADRE, S.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Ascorbate, not urate, modulates the plasma antioxidant capacity after strawberry intake. **Food Chemistry**, v. 117, p. 181-188, 2009.
- VALLE, A. Z. D.; MIGNANI, I.; SPINARDI, A.; GALVANO, F.;

CIAPPELLANO, S. The antioxidant profile of three different peaches cultivars (*Prunus persica*) and their short-term effect on antioxidant status in humans. **European Food Research and Technology**, v. 225, p. 167-172, 2007.

VAN DER SLUIS, A. A.; DEKKER, M.; JAGER, A.; JONGEN, W. M. F. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 3606-3613, 2001.

VIEIRA, F. G. K.; BORGES, G. S. C.; COPETTI, C.; AMBONI, R. D. M. C.; DENARDI, F.; FETT, R. Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh) grown in southern Brazil. **Scientia Horticulturae**, v. 122, p. 421-425, 2009.

WOJDYLO, A.; OSZMIANSKI, J.; LASKOWSKI, P. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 6520-6530, 2008.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os resultados das análises sobre a concentração de fenólicos, flavanóis e antocianinas monoméricas totais revelaram diferenças entre as cultivares e as partes da maçã estudadas, sendo significativamente maiores na casca, seguidas da fruta inteira e polpa;
- Os resultados das análises sobre a atividade antioxidante na fruta, através dos métodos ABTS, DPPH e FRAP, demonstraram diferenças entre as cultivares de maçã analisadas, sendo significativamente maiores na casca, seguidas da fruta inteira e polpa;
- Entre as cultivares da Estação Experimental de São Joaquim, os resultados do estudo revelaram que, independente do ano de colheita a cultivar Catarina apresentou as maiores concentrações de fenólicos totais, flavanóis totais e atividade antioxidante, enquanto que a cultivar Golden Delicious apresentou as menores concentrações destes parâmetros;
- Os resultados do estudo *in vivo*, demonstraram que o consumo agudo de suco de maçã da cultivar Golden Delicious e Catarina semelhantemente promoveu proteção ao organismo contra o estresse oxidativo, uma vez que se observou um aumento significativo da atividade antioxidante e uma diminuição da oxidação lipídica no organismo;
- As diferentes capacidades antioxidantes *in vitro* das cultivares de maçãs estudadas, não resultaram em um equivalente efeito antioxidante *in vivo* no soro, sugerindo que a cultivar pode substancialmente influenciar a composição química da fruta, mas a modulação dos efeitos fisiológicos em humanos não pode ser predito somente pela sua análise química;
- Os resultados sobre a oxidação lipídica *ex vivo*, demonstraram que o consumo agudo de suco de maçã da cultivar Golden Delicious e Catarina não protegeram o soro contra a indução da oxidação lipídica *ex vivo*;
- Torna-se de extrema importância a realização de estudos futuros com o objetivo de identificar e quantificar os compostos fenólicos individuais na polpa e casca de diferentes cultivares de macieira que tenham o potencial de se tornarem cultivares comerciais.



**ANEXOS**



## ANEXO A - Características das cultivares de macieiras estudadas.

Características das cultivares de macieiras estudadas em relação à exigência em frio, resistência às doenças fúngicas e às características dos frutos.

Cultivar	Exigência em frio (horas)*	Resistência às doenças fúngicas			
		Sarna	Oídio	Podridão amarga	Mancha foliar
Baronesa	500 - 600	Média	Média	Média	Alta
Braeburn	600 - 700	Baixa	Baixa	--	Baixa
Catarina	700 - 800	Alta	Média	Baixa	Alta
COOP-24	550 - 650	Alta	Média	Baixa	Alta
Daiane	650 - 750	Baixa	Média	Média	Alta
Epagri-F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	550 - 650	Alta	Média	Baixa	Alta
Epagri-F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	700 - 800	Alta	Média	Média	Alta
Epagri-F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	550 - 650	Alta	Baixa	Baixa	Alta
Epagri-F P <sub>161</sub>	600 - 700	Alta	Baixa	Baixa	Alta
Epagri-SJ11	600 - 700	Alta	Média	Baixa	Alta
Fred Hough	600 - 650	Alta	Baixa	Baixa	Baixa
Fuji Kiku 8	700 - 800	Baixa	Média	Baixa	Alta
Fuji Precoce	700 - 800	Baixa	Baixa	Baixa	Alta
Fuji Standard	700 - 800	Baixa	Média	Baixa	Alta
Fuji Suprema	700 - 800	Baixa	Média	Baixa	Alta
Gala	700 - 800	Baixa	Baixa	Baixa	Baixa
Galaxy	700 - 800	Baixa	Baixa	Baixa	Baixa
Golden					
Delicious	700 - 800	Baixa	Baixa	Baixa	Baixa
Imperatriz	600 - 650	Baixa	Baixa	Baixa	Alta
Jonagolden	700 - 800	Baixa	Baixa	Baixa	Baixa

\* Número de horas de frio hibernal igual ou inferior a 7.2°C.

Fonte: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina.

Características das cultivares de macieiras estudadas em relação às características dos frutos.

Cultivar	Características dos frutos				
	Cor da epiderme	Cor de fundo	Cor da polpa	Maturação	
				Início	Fim
Baronesa	Vermelho -opaca	Verde- amarelada	Branca- creme	Final março	Meados abril
Braeburn	Vermelho -estriada	Verde- amarelada	Amarelo- creme	Início março	Final março
Catarina	Vermelho -estriada	Amarela	Branco- creme	Final março	Final abril
COOP-24	Vermelho- escura sólida	Amarela	Branca	Início março	Final abril
Daiane	Vermelho -estriado	Amarela	Amarelo- creme	Início março	Final março
Epagri- F <sub>3</sub> P <sub>126</sub>	Vermelho- escura sólida	Verde- amarelada	Branca	Início abril	Final abril
Epagri- F <sub>43</sub> P <sub>23</sub>	Vermelho- semi-estriada	Verde- amarelado	Amarelo- creme	Final março	Final abril
Epagri- F <sub>5</sub> P <sub>283</sub>	Vermelho- semi-estriada	Amarela	Amarelo- creme	Final março	Meados abril
Epagri-F P <sub>161</sub>	Vermelho- semi-estriada	Amarela	Amarelo- creme	Final março	Meados abril
Epagri-SJ11	Vermelho - sólida	Amarela	Amarelo- creme	Meados fevereiro	Meados março
Fred Hough	Vermelho -estriada	Amarela	Amarelo- creme	Final fevereiro	Meados março
Fuji Kiku 8	Vermelho -estriada	Amarela	Branco- creme	Final março	Início abril
Fuji Precoce	Vermelho -estriada	Amarela	Branco- creme	Meados fevereiro	Meados março
Fuji Standard	Vermelho -estriada	Verde- amarelada	Branco- creme	Final março	Início abril
Fuji Suprema	Vermelho -sólida	Verde- amarelada	Branco- creme	Final março	Início abril
Gala	Vermelho -estriada	Amarela	Amarelo- creme	Início fevereiro	Final fevereiro
Galaxy	Vermelho -estriada	Amarela	Amarelo- creme	Início fevereiro	Final fevereiro
Golden Delicious	Verde- amarelada	Amarela	Amarelo- creme	Meados fevereiro	Meados março
Imperatriz	Vermelho -estriada	Amarela	Amarelo- creme	Final janeiro	Meados fevereiro
Jonagolden	Vermelho -estriada	Amarela	Branco- creme	Meados março	Meados abril

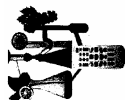
Fonte: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina.





ANEXO B - Resumo apresentado no XXI Congresso Brasileiro de  
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

# XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos



XV Seminário Latino Americano e do Caribe  
de Ciência e Tecnologia de Alimentos

## Certificado

ROSEANE FETT

Participou do XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos e do XV Seminário Latino Americano e do Caribe de Ciência e Tecnologia de Alimentos, realizados no período de 08 a 09 de outubro de 2008, em Belo Horizonte, Minas Gerais apresentando o trabalho **CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE SEIS CULTIVARES DE MACA (*Maius domestica Borkh*)** na seção POSTER, de autoria de **CRISTIANE COPETTI, FRANCILENE GRACIELI KUNRADI VIEIRA, GRACIELE DA SILVA CAMPELO BORGES, FREDERICO DENARDI, ROSEANE FETT**.

*Benício*

José Benício Chaves  
Presidente da Comissão Organizadora

PROMOÇÃO



ORGANIZAÇÃO



Anexo C - Artigo completo publicado “Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh)”.  
Scientia Horticulturae, v. 122, p. 421-425, 2009.



Contents lists available at ScienceDirect

Scientia Horticulturae

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scihorti



## Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh) grown in southern Brazil

Francilene Gracieli Kunrudi Vieira<sup>a,\*</sup>, Graciele Da Silva Campelo Borges<sup>a</sup>, Cristiane Copetti<sup>a</sup>, Renata Dias De Mello Castanho Amboni<sup>a</sup>, Frederico Denardi<sup>b</sup>, Roseane Fett<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Food Science and Technology, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

<sup>b</sup> Rural Issues and Agricultural Research Institute of Santa Catarina (IRAGRO), Capão, SC, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 8 April 2009

Received in revised form 2 June 2009

Accepted 3 June 2009

#### Keywords:

Apple

Physicochemical analysis

Total phenolics

Anthocyanins

Antioxidant activity

### ABSTRACT

The objective of this study was to compare the physico-chemical properties and antioxidant activity of six apple cultivars grown in southern Brazil. Apple peel color, dry matter, total soluble solids, pH, total sugar, titratable acidity, total phenolics, total monomeric anthocyanin and total antioxidant activity were measured in the apple cultivars Imperator, Dourado, Red Hougli, Fuji Suprema, Galaxy and Ramona. The results showed great quantitative differences in the composition of the apple cultivars. Of all the cultivars, the peel of Galaxy was slightly more red-colored and that of Red Hougli was the least red-colored. The dry matter varied from 15.24% (Galaxy) to 18.55% (Fuji Suprema), the soluble solids content was between 11.8 (Red Hougli) and 14.0 (Dourado), titratable acidity varied from 3.90 (Imperator) to 4.27 (Red Hougli), the total sugar content ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) ranged from 11.54 (Imperator) to 14.78 (Fuji Suprema) and the titratable acidity content ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) varied from 0.20 (Ramona) to 0.3 G (Imperator). The total phenolic content ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$  fresh matter) observed in the apple cultivars was between 105.4 (Ramona) and 209.7 mg (Imperator). The values of the total anthocyanin content ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$  FW) ranged from 4.79 (Red Hougli) to 41.95 (Galaxy). The highest total antioxidant activity was observed in Imperator (739  $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$  FW), while the lowest value was found in Fuji Suprema (335  $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$  FW). There was a strong correlation between total monomeric anthocyanin content and all peel color measurements and between antioxidant activity and total phenolic content. The results suggested that genotype is the main factor that determines the composition of bioactive compounds in apples and this provides important information on how to make the best use of the apple cultivars investigated.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

Apples are one of the most frequently consumed fruits. In Brazil, commercial apple production in recent years has reached 1.15 million tons/year, of which most (~70%) was used for direct consumption, and the remainder (~30%) was processed to produce juice concentrates (ISG, 2009). Apples constitute an important part of the human diet, as they are a source of sugars, acids, and various biologically active compounds, such as phenolic compounds, which are responsible for most of the antioxidant activities of the fruit (Wu et al., 2007). Along with sugars and

organic acids, phenolics determine the quality of the apples (Nogueira et al., 2006). The concentration of these phenolic compounds, particularly anthocyanins, is strongly dependent on the apple cultivar and the maturity of the apples and is closely associated with their nutritional and sensory qualities, such as taste and color (Wu et al., 2007). In addition, recent studies have shown that the apple cultivar may also substantially influence the total antioxidant activity and other physico-chemical aspects, such as color, dry matter, pH and total content of soluble solids, sugars, acids, phenolics and anthocyanins (Wojcik et al., 2003; Nogueira et al., 2004; Nogueira et al., 2006; Petkovšek et al., 2007; Drozdowski et al., 2008). These parameters may supply important information to the consumer in terms of recognizing a more nutritional fruit (Drozdowski et al., 2008).

Several studies on the physico-chemical composition of apple cultivars grown in Brazil have been published (Nogueira et al., 2004; Wojcik et al., 2004; Nogueira et al., 2006). However, to our knowledge, there has been only one report on the antioxidant

\* Corresponding author at: Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos: Rodovia Admar Gonzaga, 1466, Itacorubi, CEP: 88034-001, Florianópolis, SC, Brazil. Tel.: +55 48 39215379; fax: +55 48 37228943. E-mail address: fr.kunrudi@gmail.com (F.G.K. Vieira).

ANEXO D - Artigo completo publicado “Activity and contents of polyphenolic antioxidants in the whole fruit, flesh and peel of three apple cultivars”. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, v 59, p. 101-106, 2009.

## Activity and contents of polyphenolic antioxidants in the whole fruit, flesh and peel of three apple cultivars

Francilene Gracieli Kunrath Vieira, Gracielle da Silva Campelo Borges, Cristiane Copetti, Luciano Valdemiro Gonzaga, Eduardo da Costa Nunes, Roseane Fiet

Department of Food Science and Technology, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil,  
Company of Farming Research and Agricultural Extension of Santa Catarina, São Joaquim, Brazil

**SUMMARY.** The concentration of polyphenolic compounds, such as flavanols and anthocyanins, and the antioxidant activity in apples (*Malus domestica* Borkh) seems to differ with cultivar, maturity stage, environmental conditions and the part of the fruit. In this work, the total phenolic, flavanol and anthocyanin content and antioxidant activity were measured in the flesh, whole fruit and peel from apple cultivars Fuji, Epagri COOP24 and Epagri F5P2K3 cultivated in Southern Brazil. Total phenolic content assayed by Folin-Ciocalteu method, flavanol by modified p-dimethylaminocinnamaldehyde method, anthocyanin content by pH differential method and antioxidant activity measured using ABTS assay. One-way analysis of variance, Tukey's test and correlation analysis were performed. Within each cultivar, the total phenolic, flavanol and anthocyanin contents and antioxidant activity were highest in the peels, followed by the whole fruit and the flesh. In the peel, whole fruit and flesh the Epagri F5P2K3 apple had the highest total phenolic contents and the highest total antioxidant activity, while that Epagri COOP24 was highest in flavanols and anthocyanins. Total phenolic content was positively associated with total antioxidant activity in flesh, whole fruit and peel. These results demonstrate that phenolic compounds have a significant contribution to the total antioxidant activity which varies considerably depending of the part of the fruit and of the apple cultivar analyzed.

**Key words:** Antioxidant activity, phenolics, flavanols, anthocyanins, apple.

**RESUMEN.** Actividad y contenido de polifenoles antioxidantes en fruta entera, pulpa y cáscara de tres cultivares de manzana. La concentración de compuestos polifenoles, como flavanoles y antocianinas, y la actividad antioxidante en manzanas (*Malus domestica* Borkh) parecen diferir con la cultivar, etapa de madurez, condiciones ambientales y la parte de la fruta. En este trabajo, el contenido de fenoles, flavanoles y antocianinas totales y la actividad antioxidante fueron medidos en fruta entera, pulpa y cáscara de las cultivares de manzana Fuji, Epagri COOP24 y Epagri F5P2K3 cultivadas en el sur de Brasil. El contenido de fenoles totales se midió con el método Folin-Ciocalteu, flavanoles con el método modificado p-dimetilaminocinnamaldehído, antocianinas con el método de diferencia de pH y actividad antioxidante fue medida aplicando el método ABTS. Se realizó análisis de varianza de un factor, prueba de Tukey y análisis de correlación. Dentro de cada cultivar, el contenido de fenoles, flavanoles y antocianinas totales y la actividad antioxidante fueron más alto en las cáscaras, seguidas por la fruta entera y pulpa. En la cáscara, en la fruta entera y pulpa, manzana Epagri F5P2K3 presentó el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante total más alto, mientras que la Epagri COOP24 presentó valores más alto de flavanoles y antocianinas. El contenido de fenoles totales fue asociado positivamente a actividad antioxidante total en la pulpa, fruta entera y cáscara. Estos resultados demuestran que los compuestos polifenoles tienen una contribución significativa a la actividad antioxidante total, los cuales varían considerablemente de acuerdo al de la parte de la fruta y cultivar de manzana analizada.

**Palabras clave:** Actividad antioxidante, fenoles, flavanoles, antocianinas, manzana.

### INTRODUCTION

Apple (*Malus domestica* Borkh) consumption has been associated with reduced risk of degenerative diseases, such as cancer and cardiovascular diseases (1,2). This association is often attributed to the polyphenolics antioxidants contained in apples, which can protect the human body against oxidative stress by scavenging oxygen free radicals (3). Apples also contain ascorbic acid but explain less than 0.4% of the antioxidant activity, indicating that other factors, such as phenolics, are the main contributors (4). Many studies show that the concentration of phenolic compounds, such as flavanols and anthocyanins in apple differ with cultivar,

maturity stage, environmental conditions and the part of the fruit (4-6). According to many authors, the content of total phenolic compounds and the antioxidant activity is particularly high in the peel of apples than whole fruit and in the flesh (4-6). These facts suggested that apple peels may possess more bioactivity than the flesh. Interestingly is the real proportion of peel of the apple fruit (based on its weight) to the whole apple quantity, especially as this part of fruit is frequently discarded as a waste product during apple manufacturing or before eating (7).

Several characterization studies of different parts of apple in cultivars grown in the United States (5), Italy (6), Poland (7) and New Zealand (8) have been carried out on the basis

ANEXO E - Comprovante de submissão de artigo para a revista LWT -  
Food Science and Technology.

Ms. Ref. No.: LWT-D-10-00167

Title: Polyphenolic contents and antioxidant activity of apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil

LWT - Food Science and Technology

Dear Francilene,

Your submission "Polyphenolic contents and antioxidant activity of apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil" has been assigned manuscript number LWT-D-10-00167.

To track the status of your paper, please do the following:

1. Go to this URL: <http://ees.elsevier.com/lwt/>
2. Enter your login details
3. Click [Author Login]  
This takes you to the Author Main Menu.
4. Click [Submissions Being Processed]

Thank you for submitting your work to LWT - Food Science and Technology.

Kind regards,

Liz Wang

Central Administrator

LWT - Food Science and Technology



ANEXO F - Parecer de aprovação pelo comitê de ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão  
Comitê de Ética na Pesquisa em Seres Humanos

**CERTIFICADO**

Nº 214

O Comitê de Ética na Pesquisa em Seres Humanos (CEPSH) da Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Santa Catarina, instituído pela PORTARIA N.º 0584/GR/99 de 04 de novembro de 1999, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEPSH, considerando o conteúdo no Regimento Interno do CEPSH, **CERTIFICA** que os procedimentos que envolvem seres humanos no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

#### APROVADO


PROCESSO: 239/08 FR-217879

TÍTULO: Efeito do consumo agudo de maçã (*Malus domestica* Borkh) na atividade antioxidante do plasma de indivíduos saudáveis.

AUTORES: Patrícia Faria Di Pietro, Francilene Gracieli Kunradi Vieira, Edson Luiz da Silva e Roscane Fett.

DPTO.: Nutrição/UFSC

FLORIANÓPOLIS, 29 de setembro de 2008.

  
Coordenador do CEPSH/UFSC - Prof.º Washington Portela de Souza